

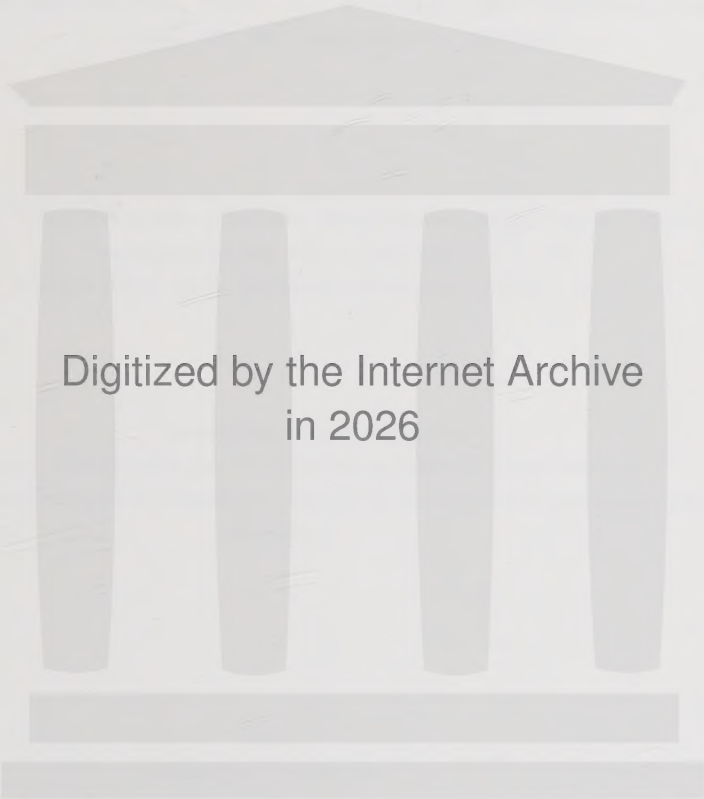
Die Proliferation
glatter Gefäßmuskelzellen
nach Kurzzeitverabreichung von
Lipofundin^R S 20 %

— Eine licht- und elektronenmikroskopische Studie —

Dietrich Seifert

Diss.
München
1975





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554620_0035

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Heidelberg
Direktor: Prof. Dr. Dres. h. c. W. Doerr
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. W. Hofmann,
Heidelberg und Prof. Dr. H. Jellinek, Budapest
vorgelegt über den Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und
Neuropathologie (Prof. Dr. E. Dahme) der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Die Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen nach Kurzzeit-
verabreichung von Lipofundin^R S 20 %.
- Eine licht- und elektronenmikroskopische Studie -

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Dietrich Seifert
aus
Jössnitz/Vogtland
München 1982

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München.

Dekan:	Prof. Dr. W. LEIDL
Referent:	Prof. Dr. E. DAHME
Korreferent:	Prof. Dr. H.-G. LIEBICH

Tag der Promotion:	22. Februar 1985
--------------------	------------------

INHALTSVERZEICHNIS

	<u>Seite</u>
1. Einleitung	1
2. Material und Methode	4
2.1 Lipofundin ^R S 20 % - Zusammensetzung, Anwendung und Dosierung	4
2.2 Versuchsaufbau	5
2.3 Morphologie	6
2.3.1 Lichtmikroskopie	6
2.3.2 Perfusionsfixation und Elektro- nenmikroskopie	6
2.4 Biochemie	8
2.4.1 Lipoproteinelektrophorese	8
2.4.2 Gelfiltration	9
3. Ergebnisse	10
3.1 Gefäßveränderungen nach Lipofundgabe	10
3.1.1 Lichtmikroskopische Untersuchung der Aorta	10
3.1.2 Elektronenmikroskopische Unter- suchung der Aorta	18
3.1.3 Lichtmikroskopische Untersuchung der Coronararterien	33
3.1.4 Elektronenmikroskopische Unter- suchung der Coronararterien	35

	<u>Seite</u>
3.2 Biochemische Veränderungen nach Lipofundingabe	42
3.2.1 Biochemische Analyse von Lipofundin ^R S 20 %	42
3.2.2 Veränderungen der biochemischen Parameter nach 7-tägiger Lipofundininjektion	44
4. Diskussion	48
5. Zusammenfassung	63
6. Summary	65
7. Literaturverzeichnis	

1. EINLEITUNG

=====

Der Begriff "Arteriosklerose" subsumiert eine Vielfalt von Erscheinungsbildern in der Gefäßwand (DENG UND HOFMANN 1982). DOERR (1960, 1963, 1964, 1974 A, 1974 B, 1975, 1976, 1978 A, 1978 B, 1979) spricht daher von "Kardinalformen" und von "Gangarten" der Arteriosklerose, wobei er unter der ersten Kardinalform Störungen der plasmatischen Perfusion, Verengerungen der Porengröße des Molekularsiebs während der Biorheuse, Fibrininkorporation von mikrothrombotischen Sedimentationen in die Gefäßwand sowie die lipoproteidige Insudation versteht. Als zweite Kardinalform gilt die polytope, aus glatten Muskelzellen bestehende proliferationstüchtige, insbesondere an den Coronararterien sich abspielende, stenosierende Form der Arteriosklerose bei jungen Menschen, die sogenannte "juvenile Coronarsklerose". Neben diesen ätiopathogenetischen Faktoren werden heute im wesentlichen vier Theorien für die Atherogenese diskutiert:

1. Injury- and Repair-Hypothese (ROSS AND GLOMSET 1976; ROSS 1979).
2. Monoclonale Proliferation von glatten Muskelzellen (BENDITT AND BENDITT 1973; BENDITT 1977).
3. Verlust von Membranrezeptoren glatter Muskelzellen (BROWN AND GOLDSTEIN 1976).

4. Lysosomale Insuffizienz glatter Muskelzellen (DE DUVE 1976).

Überblickt man die sprunghaft angestiegene Literatur der letzten Jahre, so gilt die Proliferation von glatten Muskelzellen als Initialantwort der Gefäßwand auf irgendwelche Noxen. Zu nennen sind Hypercholesterinämie, Hypertonus, Schädigung der Endothelzelltapete mit Thrombocytenaggregation und nachfolgender Einwirkung von Wachstumsfaktoren.

Aus vergleichend pathologisch-anatomischer Sicht sind entsprechende Spontanveränderungen im Tierreich in Aorta und Coronararterien mit Ausnahme beim Schwein und beim Affen nicht oder fast unbekannt (DAHME 1969; MEYER 1969). Bei den klassischen Pflanzenfressern, den Lagomorpha (Hasen und Kaninchen), beobachtet man sowohl in freier Wildbahn als auch in Gefangenschaft - als Versuchstiere gehalten - nur ganz vereinzelt arteriosklerotische Gefäßalterationen. Erst dann, wenn man hohe Mengen von Cholesterin an Kaninchen verfüttert, also experimentell eine Hypercholesterinämie induziert, kann man relativ leicht höchste Grade einer Fütterungsatheromatose erzeugen (HOFMANN 1971 A UND B; HÖPKER ET AL. 1975; DENG UND HOFMANN 1982). Sehr viel schwieriger erweist sich die Ratte als Modell einer experimentell inszenierten Arteriosklerose (HORSCH ET AL. 1981). Man führt dies darauf zurück, daß die Ratte eine hohe Konzentration an α -Lipoproteinen (HDL*), jedoch nur geringe Mengen an β -Lipoproteinen (LDL**) im Plasma aufweist (CHAPMAN 1980).

* HDL = High Density Lipoproteins

** LDL = Low Density Lipoproteins

Anlaß für nachfolgende Studie war ein erster Hinweis auf WAKELY UND HUG (1981) sowie MEYER UND MITARBEITERN (1981), die auf arterielle Gefäßwandveränderungen bei Säuglingen nach Gaben von lipidreichen Infusionslösungen aufmerksam machten.

Unter Leitung von Herrn Prof. Dr. JELLINEK, Pathologisches Institut der Universität Budapest, der als Gastprofessor im Pathologischen Institut der Universität Heidelberg weilte, sowie Herrn Prof. Dr. HOFMANN wurde mir daher die Aufgabe gestellt zu prüfen, ob im Tierexperiment bei der Ratte nach kurzzeitiger intravenöser Verabreichung von Lipofundin^R S 20 % Gefäßwandalterationen sowohl an muskulären Coronararterien als auch an elastischen Gefäßen (Aorta) zu beobachten sind. Darüber hinaus sollten die pathogenetischen Faktoren ermittelt werden.

2. MATERIAL UND METHODE

2.1 Lipofundin^R S 20 % - Zusammensetzung, Anwendung und Dosierung

Lipofundin^R S 20 % ist eine stabile Fetteulsion und besteht aus reinem Sojabohnenöl, einer Fraktion von Sojaphosphatiden als Emulgator und einem geringen Polyol-Anteil (Tabelle 1). Sojabohnenöl ist zu etwa 85 % zusammengesetzt aus Triglyceriden ungesättigter Fettsäuren, unter denen die essentielle Linolsäure den höchsten Anteil hat. Lipofundin^R S, als Lipofundin^R S 10 % und Lipofundin^R S 20 % erhältlich, wird zur Kalorienzufuhr in der parenteralen Ernährung und zur Substitution essentieller Fettsäuren bei Menschen eingesetzt.

1000 ml der Öl-in-Wasser-Emulsion enthalten:

Sojaöl fract.	200,0 g
Sojaphosphatid fract.	115,0 g
Xylit	50,0 g
1000 ml ≙ kJ	4020,0
≙ kcal	2135,0

Tabelle 1: Zusammensetzung von Lipofundin^R S 20 %

Da Lipofundin^R S 20 % zur parenteralen Ernährung verwendet wird, muß betont werden, daß Dosierung und Infusionsgeschwindigkeit in unserem Tierversuch wesentlich größer sind, als für den klinischen Bedarf empfohlen wird. Nach den "Empfehlungen zur parenteralen Ernährung"

(BÄSSLER ET AL, 1970) erhalten Erwachsene 1 bis 2 g Fett/kg Körpergewicht/Tag mit einer Infusionsgeschwindigkeit von höchstens 0,2 g Fett/kg Körpergewicht/Stunde (= 25 Tropfen Lipofundin^R S 20 %/Minute). In unseren Tierversuchen hingegen wurde den Ratten eine Gesamtmenge von 4 g Fett/kg Körpergewicht/Tag durch zwei Injektionen in je einer Minute verabreicht.

2.2 Versuchsaufbau

27 männliche Wistarratten mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 280 g wurden mit der Standarddiät 1324 der Firma ALTROMIN, Lage, gefüttert. 9 Tiere erhielten zusätzlich Lipofundin^R S 20 %, 9 Tiere physiologische Kochsalzlösung in Form einer intravenösen Injektion; 9 Tiere dienten als Kontrollgruppe (Tabelle 2).

Gruppen	Tiere	Behandlung
I	1 - 6 A - C	Lipofundin ^R S 20 %
II	7 - 12 D - F	NaCl (0,9 %)
III	13 - 18 G - I	Kontrolle

Tabelle 2: Zusammenstellung des Kurzzeitversuches

Die Injektionen wurden zweimal täglich in 6-stündigem Abstand über einen Zeitraum von 7 Tagen durchgeführt. Das Alter der Tiere lag zu Versuchsbeginn zwischen 10 und 14 Wochen. Die Tiere wurden in Einzelkäfigen gehalten. Die



Raumtemperatur betrug 28°C. Am 8. Versuchstag wurden die Tiere 1-18 mit Äther narkotisiert und das Abdomen mit Pinzette und Schere entlang der Linea alba bis zum Diaphragma eröffnet. Dieses wurde nicht perforiert, um einen Pneumothorax mit sofortiger Todesfolge zu vermeiden. Mit einer 0,8 mm dicken Kanüle wurde die Vena cava inferior distal der Venae renales punktiert und 3 - 6 ml Blut entnommen. Die Tiere starben im hypovolämischen Schock. Das Blut wurde biochemisch untersucht; alle Organe, insbesondere Herz mit Coronararterien und kleine Teile der Aorta, wurden in 6 %-igem Formalin fixiert. Die Gefäße der Tiere A - I wurden nach Perfusionsfixation elektronenmikroskopisch ausgewertet (Kapitel 2.3.2).

2.3 Morphologie

2.3.1 Lichtmikroskopie

Alle Organe, insbesondere Herz mit Coronararterien und Teile der Aorta, wurden in 6 %-igem Formalin fixiert. Die Paraffinschnitte wurden mit Sudan-III, Hämatoxylin-Eosin, Masson-Goldner (modifiziert nach MATSUMOTO) und mit Elastica-van-Gieson gefärbt.

2.3.2 Perfusionsfixation und Elektronenmikroskopie

Insgesamt wurden 9 Ratten perfundiert, von denen drei Tiere mit Lipofundin^R S 20 % (Tiere A-C in Tabelle 2) und drei Tiere mit physiologischer NaCl-Lösung behandelt worden waren (Tiere D-F in Tabelle 2); drei Tiere dienten als Kontrollgruppe (Tiere G-I in Tabelle 2). Nachdem jedes Tier mit 2 ml 10 %-iger Chloralhydratlösung intraperitoneal

narkotisiert worden war, wurde die Linea alba durchtrennt. Im Retroperitonealraum wurde die Aorta abdominalis ober- und unterhalb der Renalarterien abgeklemmt. Danach wurde das Gefäß in diesem vom Blutkreislauf abgeschlossenen Bereich eröffnet und eine 1,3 mm dicke Kanüle bis wenige Millimeter unterhalb der renalen Gefäße vorgeschoben. Nach Eröffnung der Vena cava inferior wurde 1 ml Blut entnommen, und die Klemme, die oberhalb der Renalarterien angebracht war, entfernt. Sodann wurde 2 Minuten lang mit einer 10 %-igen Rheomakrodelösung (MG 40000) gespült. Der Perfusionsdruck lag dabei zwischen 120 cm und 130 cm Wassersäule. Die Fixation wurde nach der Methode von REINHARD (1979) durchgeführt (Tabelle 3).

Lösung A	Lösung B
KH_2PO_4 : 1,985 g/l	136 ml Glutaraldehyd 25 %
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 8,544 g/l	(MERCK)

Lösung A und B wurden von der Perfusion gemischt ($t = 25^\circ\text{C}$).

Tabelle 3: Zusammensetzung der Fixationslösung nach REINHARD (1979).

Da die Kanüle oberhalb des Abganges der Arteria mesenterica inferior lag, waren nach 8 Minuten Perfusionsdauer alle Organe mit Ausnahme der unteren Extremitäten und des Intestinum distal der Flexura colica sinistra ausreichend fixiert. Anschließend wurden alle Organe, insbesondere Herz mit Coronararterien und Teile der Aorta, entnommen und in 6 %-igem Formalin fixiert. Ein Teil der Aorta thoracica, der proximale und distale Abschnitt des Ramus interventricularis anterior der linken Coronararterie wurden in 3 %-igem, mit Soerensenpuffer versetztem Glutaraldehyd fixiert, in 2 %-igem OsO_4 + 3 %-igem Kalium-Hexacyanoferrat (1:1)

nachfixiert und routinemäßig entwässert. Die Proben wurden in Epon/Araldit eingebettet. Die Semidünn- und Ultradünnschnitte wurden mit dem Ultramikrotom OmU₃ der Firma REICHERT, Wien, gefertigt. Angefärbt wurden die Semidünnschnitte mit einer modifizierten Toluidinblau-Lösung bei pH 10,2. Die Ultradünnschnitte wurden mit Uranylacetat und Bleicitrat nach REYNOLDS kontrastiert und mit dem EM 9 der Firma Carl ZEISS, Oberkochen, betrachtet und zur Dokumentation fotografiert.

2.4 Biochemie

2.4.1 Lipoproteinelektrophorese

Die Lipoproteine wurden mit Hilfe des Lipidophor-Systems der Firma IMMUNO, Heidelberg, aufgetrennt. Danach erfolgte eine Präzipitation mit Polyanionen und die densitometrische Auswertung mit Hilfe des Liposcript-Densitometers. Die von WIELAND UND SEIDEL (1978) beschriebene quantitative Auswertung geht von der Lipidzusammensetzung der menschlichen Lipoproteine aus und ist deshalb strenggenommen nur für menschliches Serum gültig. Deshalb wurden zur Quantifizierung lediglich die Flächen unter den Lipoprotein-Peaks bestimmt und verglichen.

Zur qualitativen Darstellung wurden die Agarose-Gele nach der densitometrischen Auswertung getrocknet und eine Lipidfärbung mit Ölrot O der Firma MERCK durchgeführt.

2.4.2 Gelfiltration

Das Serum der Kontrolltiere und der mit Lipofundin behandelten Tiere wurde gepoolt. Je 7,5 ml Serum wurde mit Kaliumbromid auf eine Dichte von 1,21 g/ml gebracht und für 24 Stunden bei 65.000 Umdrehungen pro Minute in einer Ultrazentrifuge der Firma BECKMANN zentrifugiert. Bei dieser Dichte sammelten sich alle Lipoproteine in der obersten Schicht des Zentrifugenröhrchens an. Je 3,3 ml wurden abpipettiert und davon 1,5 ml auf eine Gelfiltrationssäule (Biogel A 15 m, 2 cm Durchmesser, 65 cm Länge) aufgetragen. Fraktionen von 1,5 ml wurden gesammelt und das Elutionsprofil bei 280 nm Wellenlänge aufgezeichnet.

Anschließend wurden die den einzelnen Lipoproteinklassen entsprechenden Fraktionen gepoolt. Nach Einengung durch Druckdialyse in einer Amicon-Druckdialysekammer (Membran PM 10) auf 1-1,5 ml wurden die Lipid- und Proteinzusammensetzung der einzelnen Lipoproteinklassen, wie oben beschrieben, bestimmt.

3. ERGEBNISSE

3.1 Gefäßveränderungen nach Lipofundungabe

3.1.1 Lichtmikroskopische Untersuchung der Aorta

Lichtmikroskopisch zeigt die Aorta der Versuchs- und Kontrolltiere unterschiedliche morphologische Veränderungen: Bei den mit Lipofundin^R S 20 % behandelten Ratten ist die Endotheltapete intakt. Im Subendothelialraum liegen vereinzelte bis zahlreiche glatte Muskelzellen (Tab. 4 und Abb. 1 sowie 2). Gegen das Gefäßlumen werden diese von Endothelzellen überkleidet. Die Muskelzellen liegen gewöhnlich einschichtig, seltener mehrschichtig über der Membrana elastica interna.

Nach Fettfärbung mit Sudan III läßt sich weder in der Intima noch in der Media sudanpositives Material nachweisen. Die Gefäßwände der Tiere nach NaCl-Injektion und die der Kontrolltiere sind regelrecht (Tab. 5 und 6).

In mit Toluidinblau gefärbten Semidünnschnitten zeigen sich die Proliferationen der glatten Muskelzellen viel ausgeprägter. Die in den Subendothelialraum eingewanderten glatten Muskelzellen bilden ein- oder mehrschichtige Proliferate, die aus bis zu 20 Zellen bestehen können (Abb. 3 und 4). Über diesen Proliferaten liegt eine neugebildete Membrana elastica, die zum Lumen hin von einer Schicht intakter Endothelzellen bedeckt ist. Die Zellen erscheinen hell, obwohl man im Cytoplasma kein sudanpositives Material nachweisen kann. In einigen größeren Proliferaten findet man auch zwischen den Muskelzellen

Endothel	intakt	intakt	intakt	intakt	intakt	intakt	intakt	intakt
Subendothelialer Raum	SMC Prol. ++	SMC Prol. +	SMC Prol. +	SMC Prol. +	SMC Prol. +	SMC Prol. +++	SMC Prol. ++	SMC Prol. +++
Lamina elastica interna	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.
Tunica media	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.
Adventitia	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.

Tabelle 4: Histologische Beurteilung der Aorta nach Lipofundgabe bei lichtmikroskopischer Betrachtung.

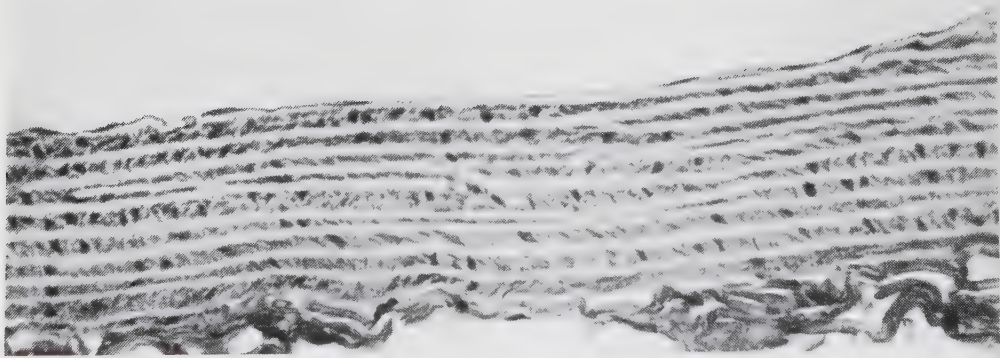


Abbildung 1: Aorta eines Kontrolltieres.
Intakte Endothelzelltapete. Subendothelialraum gering-
gradig ausgeprägt.
Färbung: Masson-Goldner, modifiziert nach MATSUMOTO.
Vergrößerung: x 720.

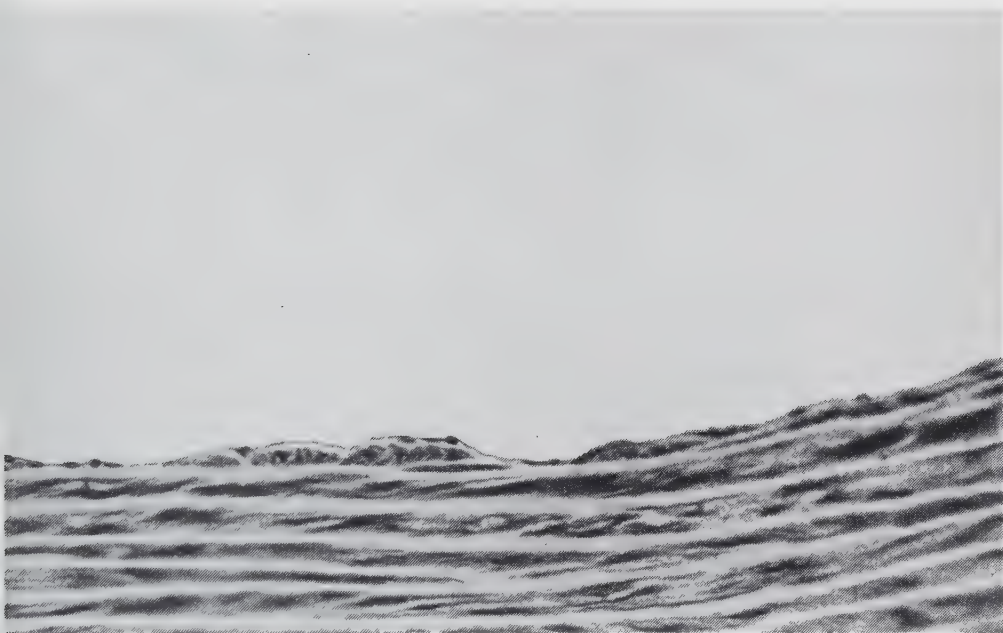


Abbildung 2: Aorta eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundungabe.
Herdförmige Proliferation von glatten Muskel-
zellen in den Subendothelialraum.
Färbung: Masson-Goldner, modifiziert nach MATSUMOTO.
Vergrößerung: x 720.

Endothel	intakt	intakt	intakt	intakt	intakt	intakt	intakt
Subendothelialer Raum	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.
Lamina elastica interna	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.
Tunica media	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.
Adventitia	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.

Tabelle 5: Histologische Beurteilung der Aorta nach NaCl-Gabe bei lichtmikroskopischer Betrachtung.

Endothel	13	14	15	16	17	18	G	H	I
	intakt	intakt	intakt	intakt	intakt	intakt	intakt	intakt	intakt
Subendothelialer Raum	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.
Lamina elastica interna	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.
Tunica media	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.
Adventitia	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.	o.B.

Tabelle 6: Histologische Beurteilung der Aorta der Kontrolltiere bei lichtmikroskopischer Betrachtung.

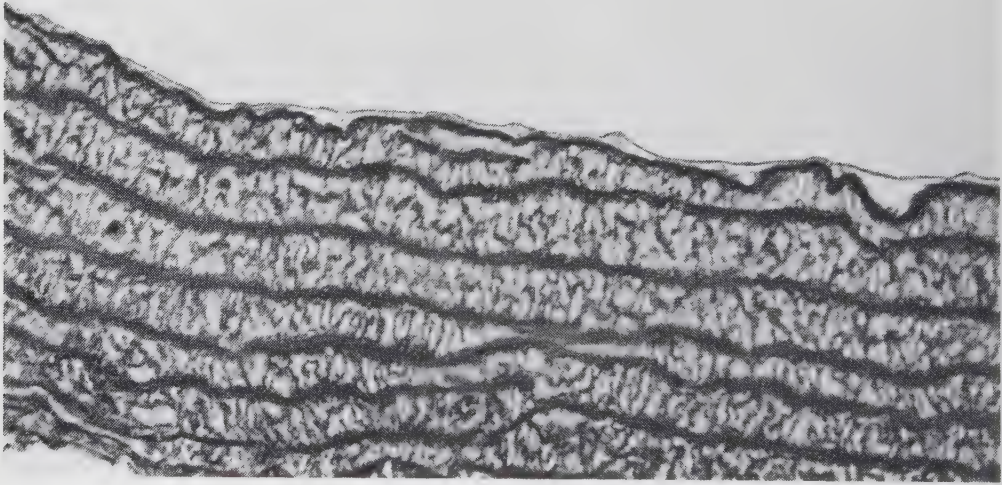


Abbildung 3: Aorta eines Kontrolltieres.
Kein definierter Subendothelialraum. Semidünnschnitt.
Färbung: Toluidinblau.
Vergrößerung: x 720.

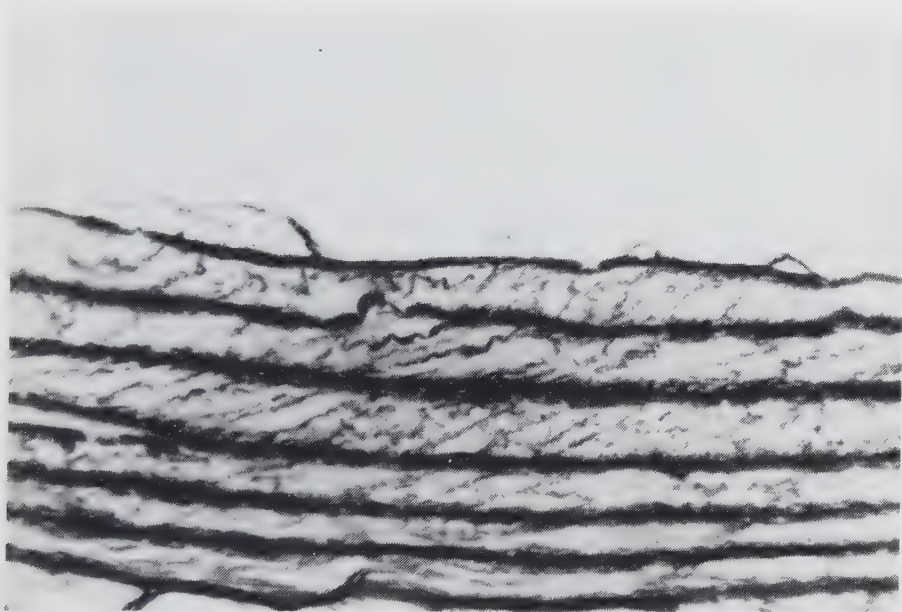


Abbildung 4: Aorta eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundungabe.
Deutliche Proliferation von glatten Muskelzellen
in den Subendothelialraum. Semidünnschnitt.
Färbung: Toluidinblau.
Vergrößerung: x 720.

elastische Strukturen, die in ihrem färberischen Verhalten der Lamina elastica interna gleichen.

Die Muskelzellen der Media zeigen keine Veränderungen, die Adventitia ist regelrecht.

3.1.2 Elektronenmikroskopische Untersuchung der Aorta

Bei elektronenmikroskopischer Betrachtung findet man ausgeprägte Alterationen der Gefäßwände.

Als früheste Veränderung beobachtet man eine Erweiterung des Subendothelialraums (Abb. 5). Hier liegen große Mengen an granulärem Material (Abb. 6 und 7). Bei den Kontrolltieren ist der Subendothelialraum schmal, er enthält nur geringe Mengen an granulärem Material. Außerdem sieht man, daß Teile von Muskelzellen, die durch die Stomata der Membrana elastica interna in den Subendothelialraum vorgewandert sind, ödematös werden und sich von den in der Media zurückgebliebenen Muskelzellen abtrennen (Abb. 8 und 9). Es handelt sich dabei um sogenannte ghost-bodies.

An anderen Stellen wiederum sieht man, daß diese "ghost-bodies" cystoide Veränderungen aufweisen (Abb. 10).

Hin und wieder hat man den Eindruck, als ob die Membrana elastica interna von Muskelzellen enzymatisch aufgelöst würde, ein Vorgang, der es den Muskelzellen ermöglicht, neben den präformierten Stomata die Membrana elastica interna zu penetrieren (Abb. 11). Man sieht daher Muskelzellen, die durch die Stomata und die enzymatisch ange-dauten Stellen der Membrana elastica interna in den Subendothelialraum eindringen. Dort sind sie von einer

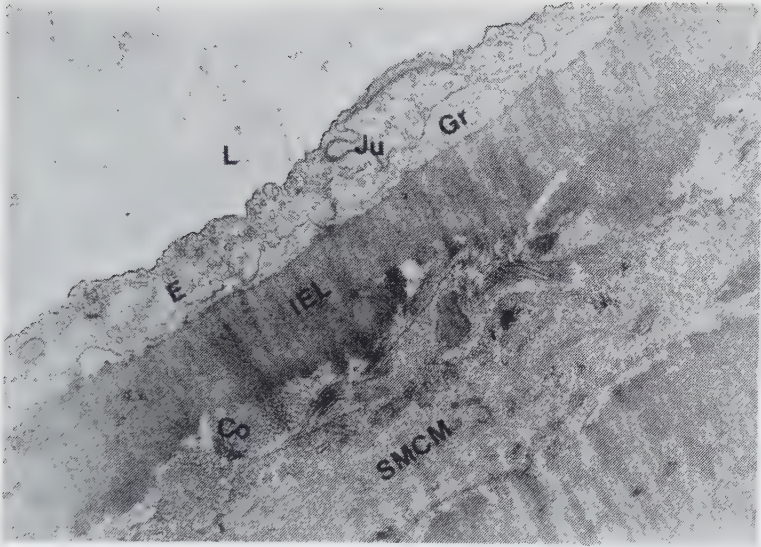


Abbildung 5: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aorta eines Kontrolltieres. Zwischen den Endothelzellen (E) und der Membrana elastica interna (IEL) liegt eine dünne Schicht aus granulärem Material (Gr.). Inter-endotheliale Junctionen (Ju). L = Lumen, SMCM = glatte Muskelzellen der Media, Co = kollagene Fasern. Vergrößerung: x 12.900.

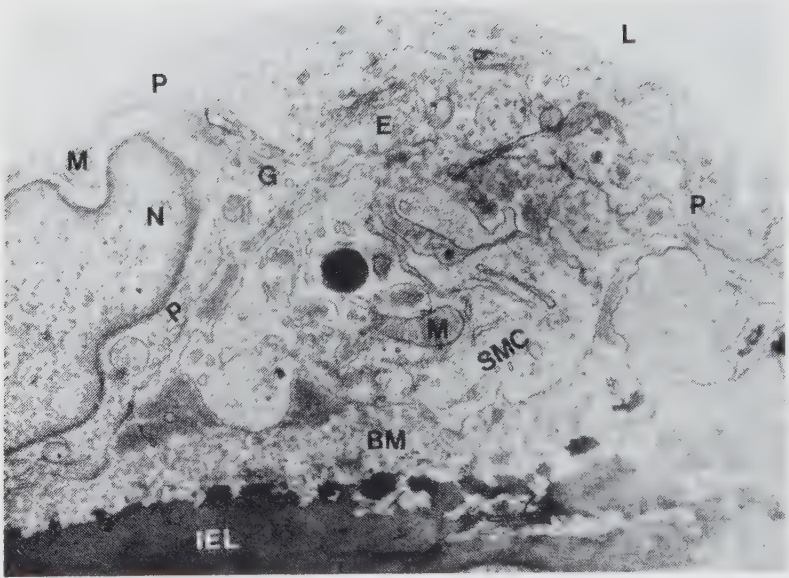


Abbildung 6: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aorta eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundungabe. An der luminalen Seite (L) der Aorta ist die Endothelzelle (E) gut erkennbar. N = Kern der Endothelzelle. Die Endothelzelle ist reich an Organellen. G = Golgi-Apparat, M = Mitochondrien. Sowohl an der luminalen als auch an der basalen Oberfläche der Endothelzelle zeigt sich eine pinocytotische Aktivität (P). BM = basement membrane-like material. Außerdem lassen sich auch im Subendothelialraum Muskelzellfortsätze mit gut erkennbaren Organellen nachweisen (SMC). Vergrößerung: x 23.500.

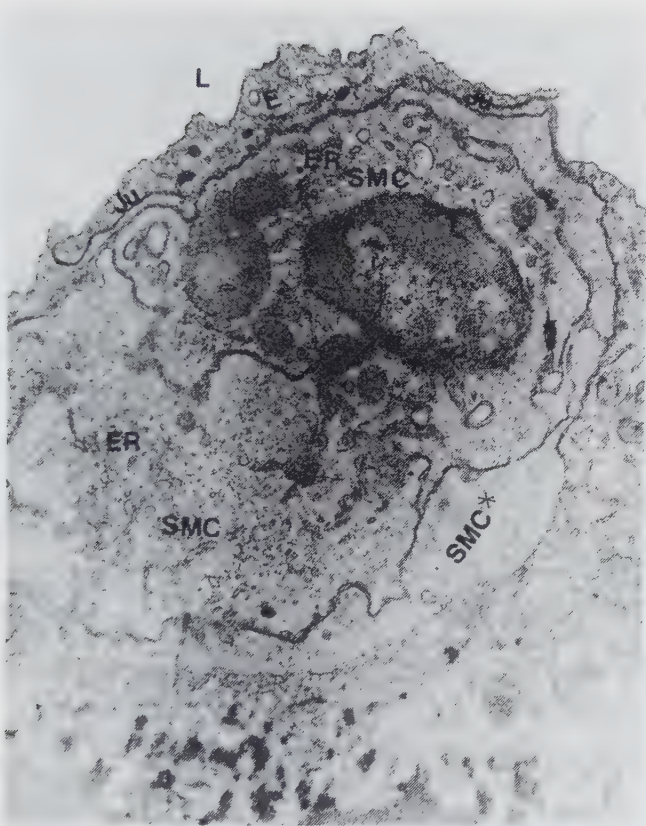


Abbildung 7: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aorta eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundungabe. Das in das Lumen ragende Proliferat wird von Endothelzellen (E) überkleidet. Darunter liegen zwei glatte Muskelzellen (SMC), die in engem Kontakt zu den Endothelzellen stehen. Zwischen den Endothelzellen liegen Junctionen (Ju). Die glatten Muskelzellen sind reich an Organellen und enthalten ein erweitertes endoplasmatisches Reticulum (ER). Im Subendothelialraum zeigt sich außerdem ein weiterer Muskelzellfortsatz (SMC*).
Vergrößerung: x 23.500.



Abbildung 8: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aorta eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundungabe. Gegen das Lumen (L) wird der subendotheliale Raum (SE) von einer Endothelzelle (E) begrenzt. Diese ist reich an Organellen. Nahe der Zellmembran kann man pinocytotische Vesikel erkennen. Im Subendothelialraum sieht man eine große Menge an basement membrane-like material (BM). Von der Muskelzelle der Media schiebt sich ein Muskelzellfortsatz (SMC*) durch die Membrana elastica interna (IEL) in den Subendothelialraum. Im Subendothelialraum findet man außerdem kollagene Fasern (Co). Vergrößerung: x 16.000.

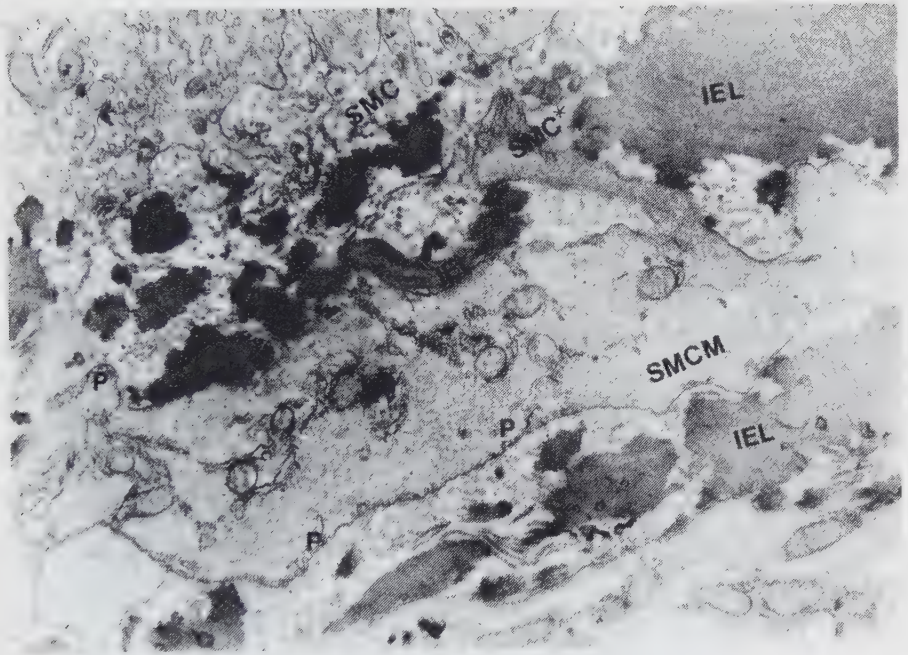


Abbildung 9: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aorta eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundgabe. Im Subendothelialraum kann man glatte Muskelzellen (SMC) sowie Muskelzellfortsätze (SMC*) erkennen, die sich aus der Media durch die Membrana elastica interna (IEL) vorgeschoben haben. Die glatte Muskelzelle zeigt eine pinocytotische Aktivität (P). SMCM = glatte Muskelzelle der Media. Vergrößerung: x 21.700.

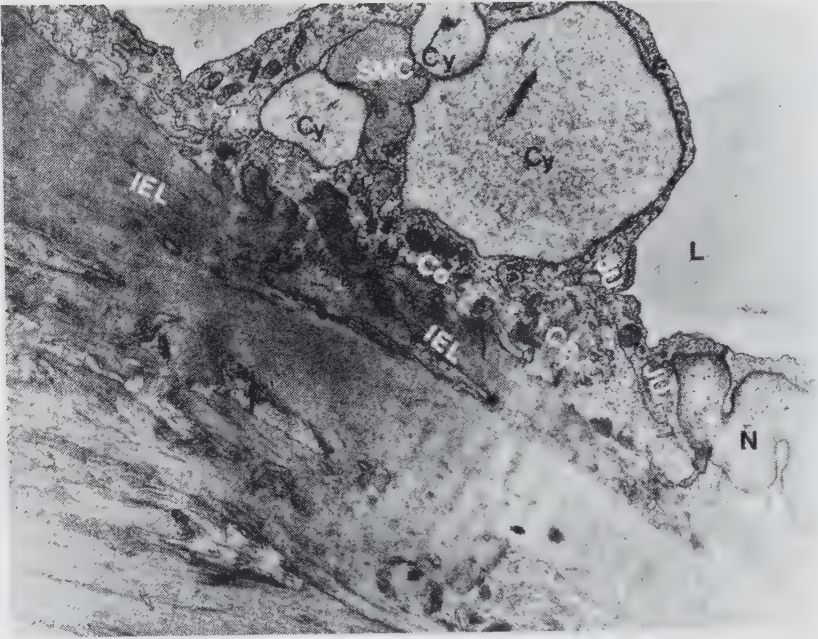


Abbildung 10: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aorta eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundungabe. Die Endothelzellen (E) weisen an der Oberfläche eine erhöhte pinocytotische Aktivität (P) auf. Sie sind durch Junktionen (Ju) miteinander verbunden. In einigen Fällen erkennt man den Zellkern (N). Im erweiterten Subendothelialraum findet man neben den erhaltenen Muskelzellfortsätzen (SMC*) Regionen, die ödematös entartet sind und cystoide Formationen (Cy) aufweisen. In diesen Fällen hat sich sehr wahrscheinlich der Zellfortsatz von der glatten Muskelzelle getrennt und ist im Subendothelialraum liegen geblieben. IEL = Membrane elastica interna, Co = kollagene Fasern. Vergrößerung: x12.900.

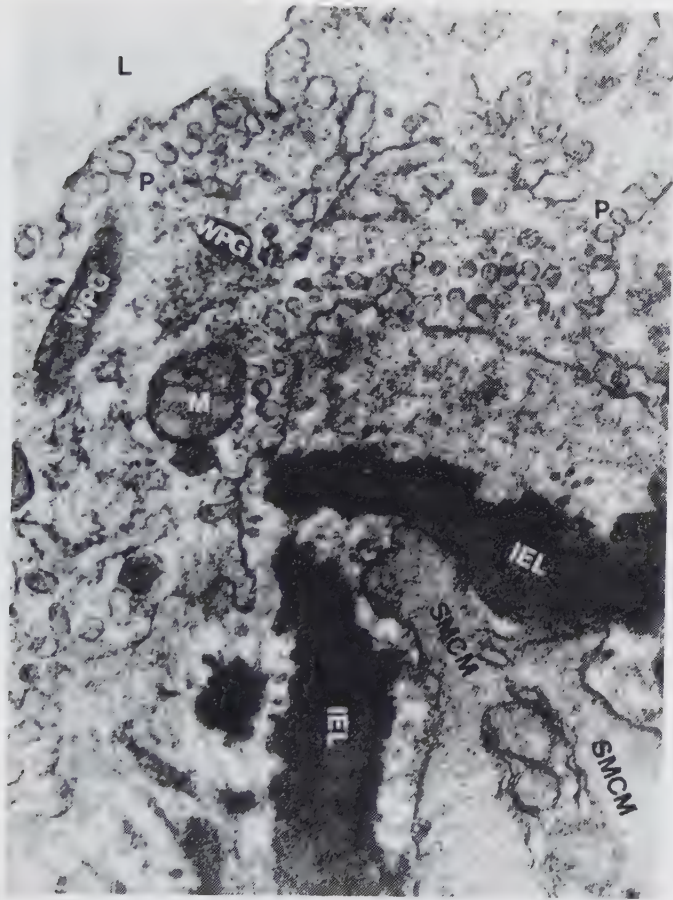


Abbildung 11: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aorta eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundungabe. Die Endothelzelle weist an der basalen und an der luminalen (L) Seite eine erhöhte pinocytotische Aktivität (P) auf. Sie läßt in ihrem Cytoplasma Mitochondrien (M) und Weibel-Palade-Granula (WPG) erkennen. Eine glatte Muskelzelle (SMCM) der Media schiebt sich durch die Membrana elastica interna (IEL). Vergrößerung: x46.000.

großen Menge von basalmembranähnlichem Material umgeben. Man beobachtet ferner, daß sich der Teil des basalmembranähnlichen Materials, der um die Muskelzellen liegt, verdoppelt oder verdreifacht, manchmal sogar ablöst und das granuläre Material bildet. Es sieht aus, als ob aus dem granulären Material Mikrofibrillen entstünden, die dann zu elastischen Granula verschmelzen, um sich schließlich zu längeren elastischen Lamellen zu formieren (Abb. 12, 13).

Im Cytoplasma einiger Muskelzellen sieht man Myofilamente und zahlreiche Mitochondrien. An der Oberfläche beobachtet man eine erhöhte pinocytotische Aktivität. In anderen Muskelzellen erkennt man eine Erweiterung des rauen endoplasmatischen Reticulum, was auf eine erhöhte Stoffwechselaktivität hinweist. Gelegentlich befinden sich zwischen den eingewanderten Muskelzellen und den Endothelzellen Zelljunctionen (Abb. 14). In den Endothelzellen kann man pinocytotische Aktivität sowohl an der luminalen als auch an der basalen Oberfläche nachweisen. Darüber hinaus findet man in einigen Endothelzellen sogenannte Weibel-Palade-Granula (WEIBEL UND PALADE 1964) (Abb. 15). Neugebildete elastische Granula und elastische Lamellen sind parallel zu den Endothelzellen ausgerichtet; zudem sind sie über den Muskelzellen und auch zwischen den Endothelzellen vorzufinden. Desweiteren findet man neugebildete elastische Granula auch zwischen den Muskelzellen, d.h. sie sind senkrecht zu der oben beschriebenen Verlaufsrichtung angeordnet (Abb. 16).

Das bedeutet also, daß die Neubildung von elastischen Granula und elastischen Lamellen innerhalb des Subendothelialraumes in verschiedenen Richtungen erfolgt, ein Phänomen, das bei den Kontrolltieren nicht auftritt. An denjenigen Stellen, an denen mehrere glatte Muskelzellen in den Subendothelialraum eingewandert sind, findet man eine in Längsrichtung verlaufende Veränderung der Oberfläche (Abb. 17).

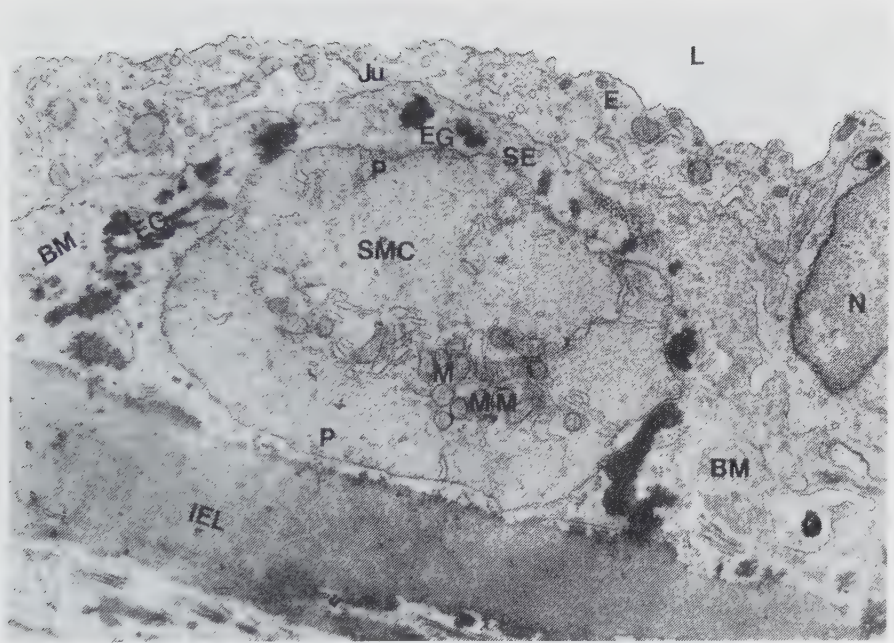


Abbildung 12: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aorta eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundungabe. Im Subendothelialraum (SE) liegt eine glatte Muskelzelle (SMC), die zahlreiche Mitochondrien (M) enthält und an der Oberfläche pinocytotische Aktivität (P) zeigt. Außerdem findet man darin basalmembranähnliches Material (BM) und elastische Granula (EG). Die Endothelzellen (E) sind reich an Organellen und durch Junktionen (Ju) verbunden. Auch der Kern (N) der Endothelzellen ist gut abgrenzbar. IEL = Membrana elastica interna. Vergrößerung: x 16.000.

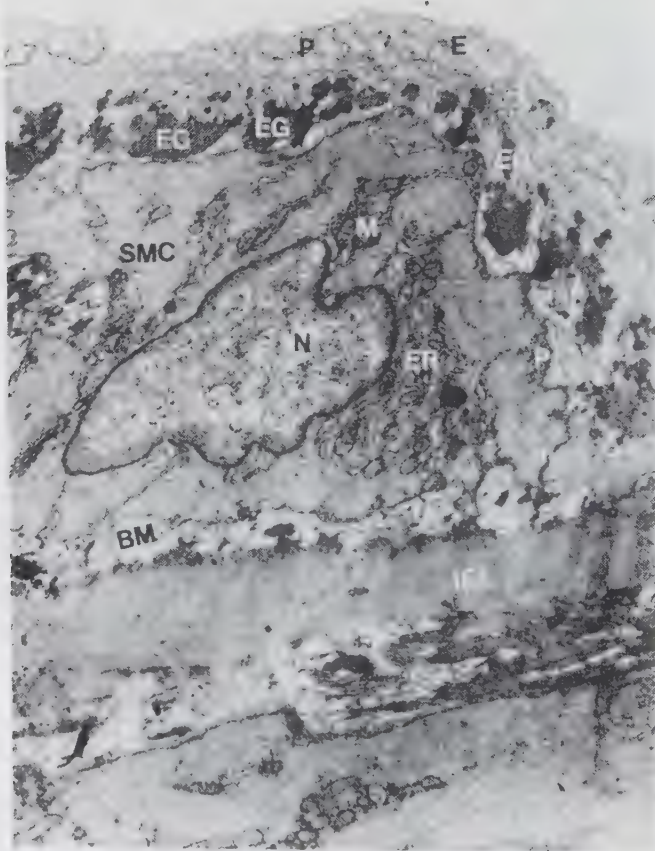


Abbildung 13: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aorta eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundungabe. Zwischen der Endothelzelle (E) und der Membrana elastica interna (IEL) liegt eine glatte Muskelzelle (SMC), die einen deutlich erkennbaren Kern (N), Mitochondrien (M) sowie ein erweitertes Ergastoplasma (ER) enthält. An der Oberfläche der Zelle findet man eine erhöhte pinocytotische Aktivität (P) sowie eine Junktion (Ju) mit einer benachbarten glatten Muskelzelle. Auch die Endothelzelle zeigt pinocytotische Aktivität (P). Im Subendothelialraum findet man basalmembranähnliches Material (BM) und zahlreiche elastische Granula (EG). Vergrößerung: x 17.900.



Abbildung 14: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aorta eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundungabe. Zwischen der Endothelzelle (E) und der Membrana elastica interna (IEL) liegen glatte Muskelzellen (SMC). Eine dieser Muskelzellen enthält zahlreiche Mitochondrien (M) und ein erweitertes Ergastoplasma (ER). Zwischen den Endothelzellen und dieser Muskelzelle findet man granuläres basalmembranähnliches Material (BM), neugebildete elastische Granula (EG), längere elastische Lamellen (EM) und kollagene Fasern (Co). Vergrößerung: x 11.500.

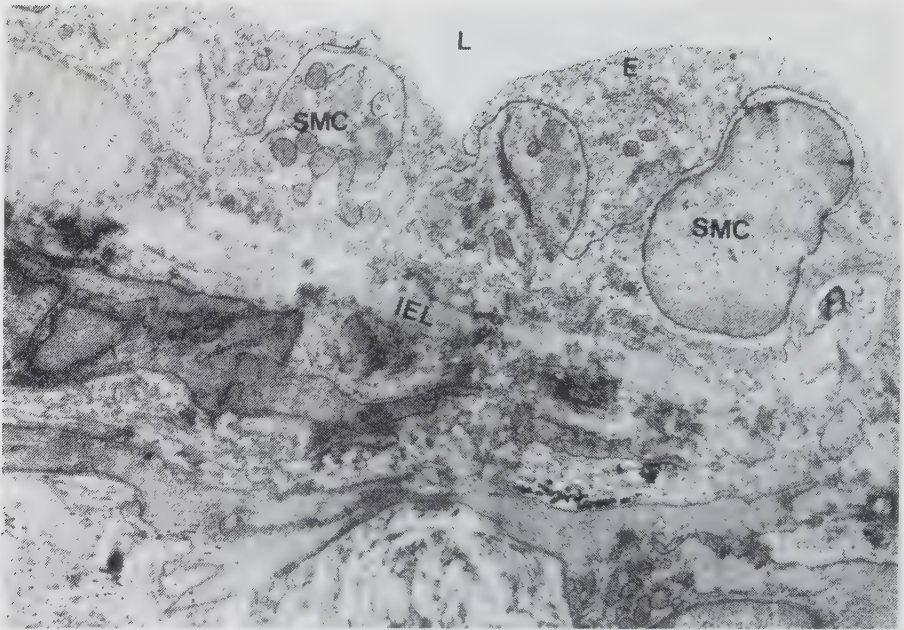


Abbildung 15: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aorta eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundungabe. Die Endothelzellen (E) enthalten zahlreiche Organellen. Zwischen diesen und der Membrana elastica interna (IEL) liegen mehrere eingewanderte glatte Muskelzellen (SMC), die in engem Kontakt zu den Endothelzellen stehen. Vergrößerung: x 8.800.

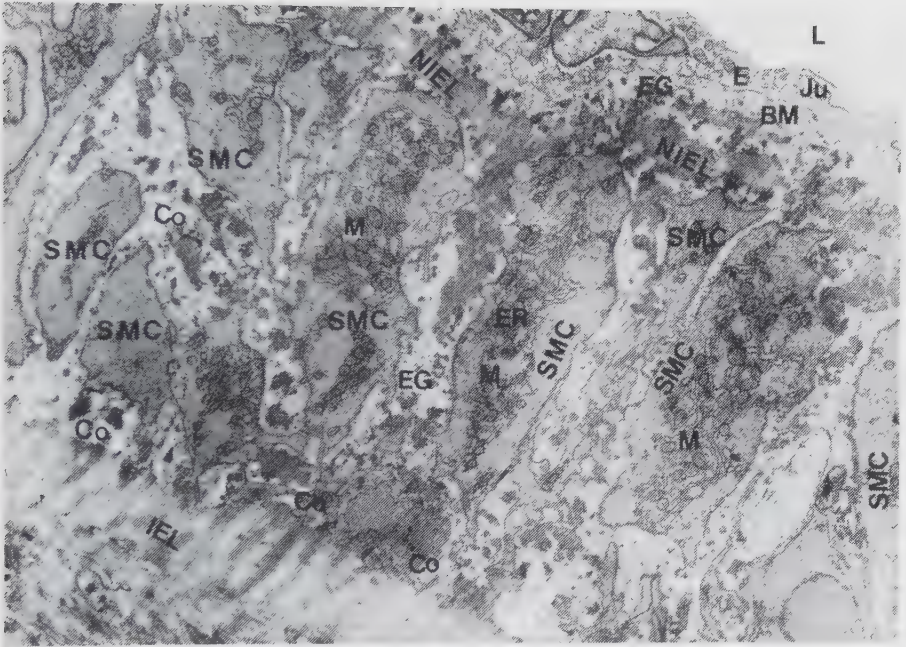


Abbildung 16: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aorta eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundungabe. An der luminalen Seite (L) sieht man Endothelzellen (E) mit einer Junktion (Ju). Zwischen der Endothelschicht und der Membrana elastica interna (IEL) liegen zahlreiche glatte Muskelzellen (SMC) sowie neugebildete elastische Lamellen. Diese neugebildete Membrana elastica interna (NIEL) füllt den Raum zwischen den eingewanderten glatten Muskelzellen und den Endothelzellen aus. Man kann in diesem Zwischenraum außerdem basalmembranähnliches Material (BM) und elastische Granula (EG) nachweisen. Auch zwischen den eingewanderten glatten Muskelzellen findet man elastische Granula, die senkrecht zu der neugebildeten Membrana elastica interna angeordnet sind. Im Subendothelialraum liegen reichlich kollagene Fasern (Co). Die erhöhte Aktivität der glatten Muskelzellen (SMC) zeigt sich in den zahlreichen Mitochondrien (M) und dem erweiterten Ergastoplasma (ER). Vergrößerung: x 8.800.

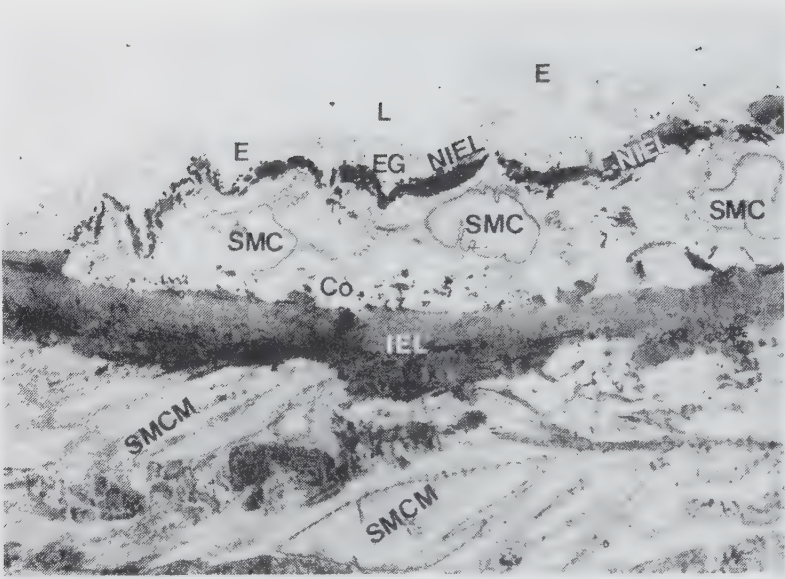


Abbildung 17: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aorta eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundungabe. Der Subendothelialraum wird von zahlreichen eingewanderten glatten Muskelzellen (SMC) ausgefüllt. Zwischen diesen glatten Muskelzellen und dem Endothel (E) erkennt man elastische Granula (EG) und eine neugebildete Membrana elastica (NIEL). Außerdem findet man große Mengen an kollagenen Fasern (Co) im Subendothelialraum. SMCM = glatte Muskelzellen der Media. Vergrößerung: x 6.400.

Schon nach 7-tägiger Lipofundungabe ist eine neugebildete, kontinuierlich verlaufende Lamina elastica vorhanden. Bei der Bildung der Lamina elastica aus granulärem Material zeigt sich ein charakteristisches Färbeverhalten:

Die neugebildeten elastischen Granula, die wahrscheinlich aus den Mikrofibrillen nach Durchtränkung mit Elastin entstanden sind, lassen sich im elektronenmikroskopischen Bild als tiefschwarze Strukturen darstellen. Die "reifen" elastischen Lamellen dagegen zeigen eine eher hellgraue Farbe.

Neben elastischen Fasern finden sich im Subendothelialraum auch große Mengen an kollagenen Fasern.

In der Media sieht man nur in der Nähe der Membrana elastica interna eine Mobilisation von glatten Muskelzellen. Darüber hinaus zeigen weder die Media noch die Adventitia augenfällige Veränderungen.

3.1.3 Lichtmikroskopische Untersuchung der Coronararterien

Lichtmikroskopisch unterscheiden sich die Coronararterien der mit Lipofundin behandelten Tiere von denjenigen der Kontrolltiere nicht. Mit der Hämatoxylin-Eosin-, Trichrom- und Elastica-van-Gieson-Färbung kann man gut erkennen, daß die grösseren subepicardial verlaufenden Coronararterienäste der Kontrolltiere eine kontinuierliche, über eine längere Gefäßstrecke verlaufende Membrana elastica interna besitzen. Bei Elastica-Färbung findet man elastische Strukturen, die direkt unter der Endothelschicht angeordnet sind (Abb. 18).

In der Media beobachtet man gelegentlich dicht nebeneinanderliegende glatte Muskelzellen. Mit Hilfe der Trichrom-

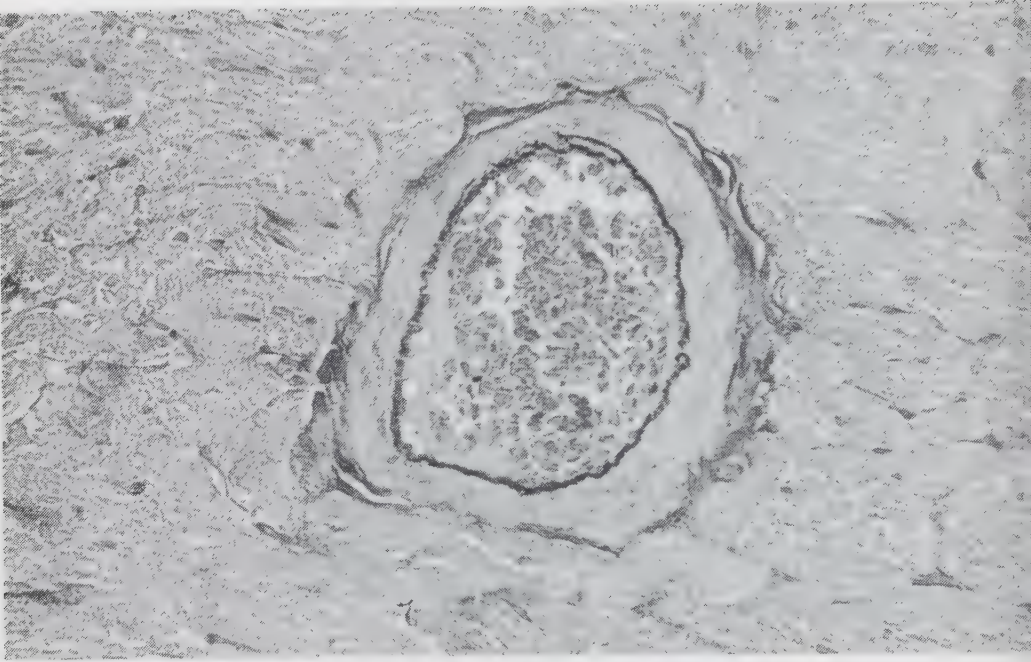


Abbildung 18: Intramurale Coronararterie eines Kontrolltieres.
Ausgeprägte Lamina elastica interna unter der
Endothelzelltapete.
Färbung: Elastica-van-Gieson.
Vergrößerung: x 720.

färbung lassen sich zwischen den Muskelzellen angeordnete Kollagenfasern darstellen. Hin und wieder sind im Subendothelialraum elastische Granula nachweisbar. In der Adventitia findet man vor allem kollagene Fasern; elastische Fasern kommen nur selten vor. Bei den Lipofundintieren sieht man ähnliche morphologische Veränderungen in der Gefäßwand. Nur vereinzelt findet man geringe Mengen an sudanpositivem Material. Hin und wieder scheinen einige Muskelzellen in den Subendothelialraum eingewandert zu sein. Eindeutige Veränderungen lassen sich lichtmikroskopisch jedoch nicht nachweisen.

3.1.4 Elektronenmikroskopische Untersuchung der Coronararterien

Die Coronararterien der Kontrolltiere zeigen elektronenmikroskopisch eine intakte Endothelzellschicht. In den Endothelzellen findet man eine pinocytotische Aktivität sowohl auf der luminalen als auch auf der basalen Seite. Unter dem Endothel liegen elastische Lamellenstücke (Abb. 19). In den kleineren subepicardial verlaufenden und in den größeren intramuralen Coronararterienästen findet man unter den Endothelzellen elastische Strukturen von unterschiedlicher Ausdehnung (Abb. 20, 21). Unter den elastischen Lamellenstücken bzw. den elastischen Granula folgt eine je nach Kaliber der Coronararterie unterschiedlich breite, aus glatten Muskelzellen bestehende Media. Zwischen den glatten Muskelzellen liegen kollagene Fasern. Elastische Fasern findet man nicht (Abb. 22). Die Adventitia besteht im wesentlichen aus kollagenen Fasern, die am Perimysium des Myokard inserieren und eine sogenannte funktionelle Einheit bilden (Abb. 23, 24).

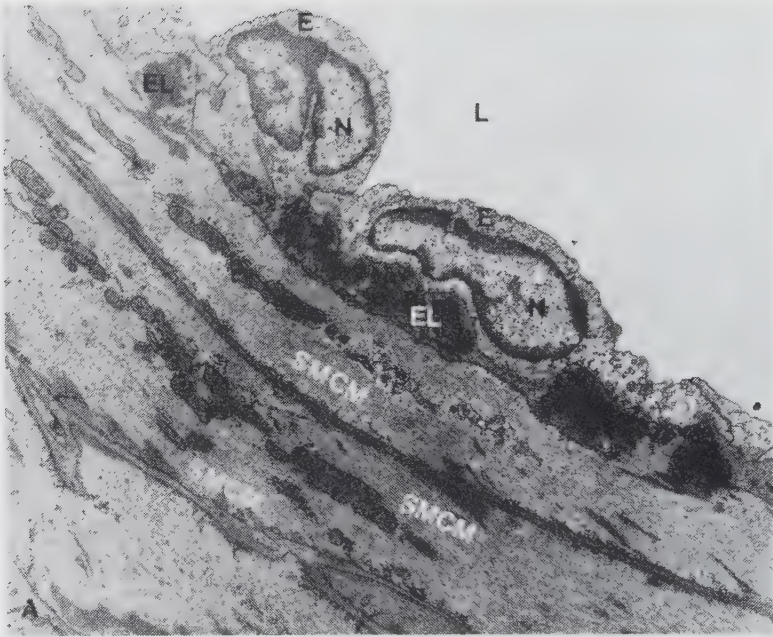


Abbildung 19: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Coronararterie eines Kontrolltieres.
Die Intima wird gegen das Lumen (L) von Endothelzellen (E) mit deutlich erkennbarem Zellkern (N) abgegrenzt. Anstelle der kontinuierlichen Membrana elastica interna findet man elastische Lamellenstücke (EL), an die sich die glatten Muskelzellen der Media (SMCM) anschließen.
Vergrößerung: x 6.400.



Abbildung 20: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines intramuralen Coronararterienastes eines Kontrolltieres. An der luminalen Seite (L) erkennt man die Endothelzellen (E) mit den Kernen (N). Unter der Endothelschicht findet man elastische Granula (EG) und elastische Lamellenstücke, an die sich die glatten Muskelzellen der Media (SMCM) anschließen. Der Media folgt eine dünne Adventitia (A), die mit dem Perimysium des Herzmuskels (HMZ) eine Einheit bildet. Ly = Lymphgefäße. Vergrößerung: x 6.400.

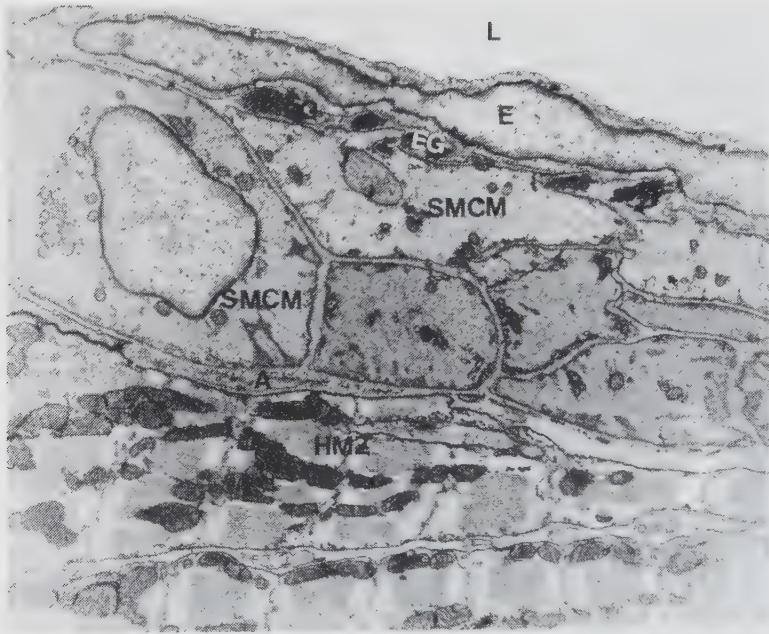


Abbildung 21: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines intramuralen Coronararterienastes eines Kontrolltieres. Gegen das Lumen (L) ist die Arterie von Endothelzellen (E) bedeckt. Unter dem Endothel erkennt man elastische Granula (EG), an die sich eine zweischichtige Tunica media aus glatten Muskelzellen (SMCM) anschließt. Es folgt eine schmale Adventitia (A), die in das Perimysium des Herzmuskels (HMZ) übergeht.
Vergrößerung: x 8.300.

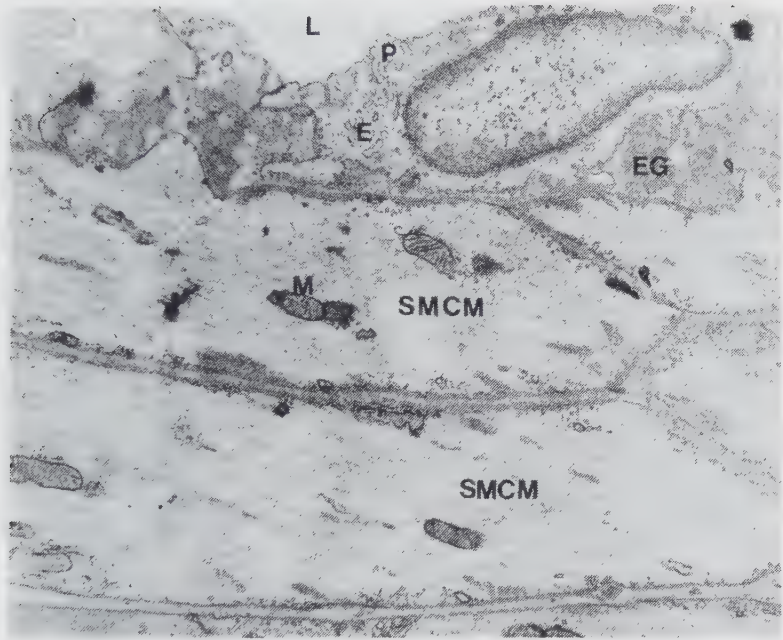


Abbildung 22: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Coronararterie eines Kontrolltieres.

An der Oberfläche der Endothelzellen (E) erkennt man pinocytotische Aktivität (P). Unter dem Endothel findet man elastische Granula (EG), an die sich die glatten Muskelzellen der Media (SMCM) anschließen. Diese sind durch schmale Spalträume voneinander getrennt. Die glatten Muskelzellen weisen zahlreiche Mitochondrien (M) auf.
Vergrößerung: x 23.500.

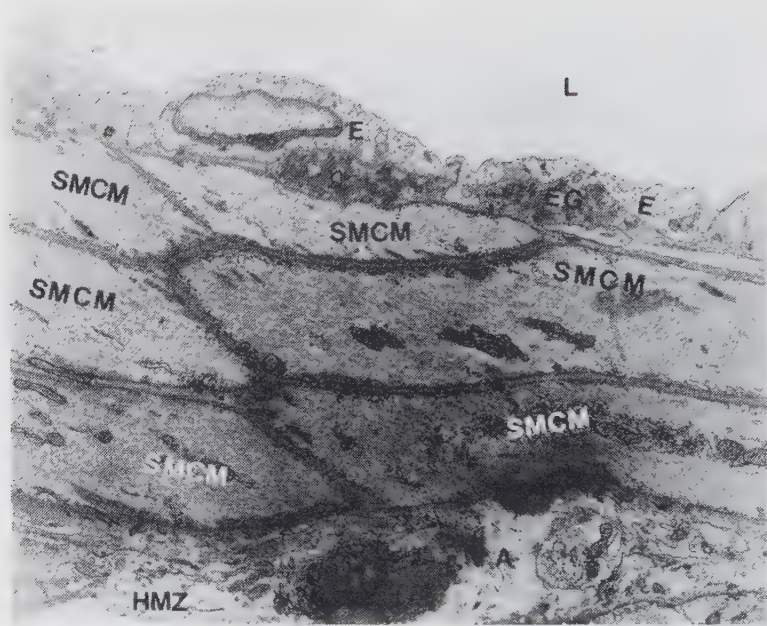


Abbildung 23: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Coronararterie eines Kontrolltieres.
An der luminalen Seite (L) erkennt man Endothelzellen (E), darunter elastische Granula (EG), die glatten Muskelzellen der Media (SMCM) und eine vor allem aus Bindegewebe bestehende Adventitia (A), die in das Perimysium des Herzmuskels (HMZ) übergeht.
Vergrößerung: x 12.900.

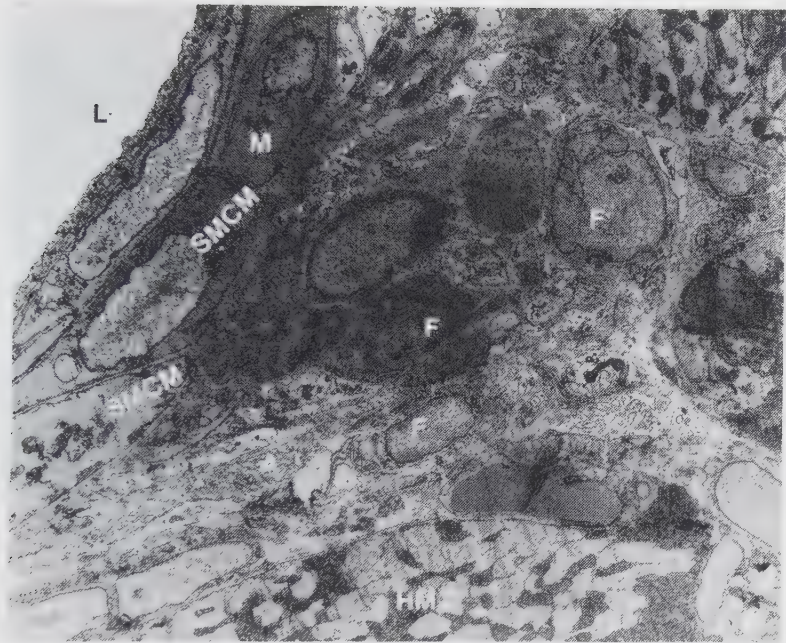


Abbildung 24: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Coronararterie eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundungabe. Die Media der Arterie ist verbreitert. Sie besteht aus mehreren Schichten glatter Muskelzellen (SMCM). Diese Muskelzellen sind mit zahlreichen Mitochondrien (M) ausgestattet. In der Adventitia (A) treten vermehrt Fibroblasten (F) auf, deren Ergastoplasma erweitert ist. Das adventitielle Bindegewebe geht direkt in das Perimysium des Herzmuskels (HMZ) über. Vergrößerung: x 9.000.

Bei allen Lipofundintieren findet man ultrastrukturell ähnliche morphologische Veränderungen. Im Subendothelialraum beobachtet man keine glatten Muskelzellen. Die Adventitia dagegen ist verbreitert und weist neben Lymphocyten auch Fibrocyten und glatte Muskelzellen auf (Abb. 25). Fetttröpfchen lassen sich weder in den Endotheln noch in den Muskelzellen der Media nachweisen. Die Anhäufung von Lymphocyten, Fibrocyten und glatten Muskelzellen in der Adventitia deutet auf eine potentielle Stimulierung der Arterienwand hin.

3.2 Biochemische Veränderungen nach Lipofundin

3.2.1 Biochemische Analyse von Lipofundin^R S 20 %

Die chemische Bestimmung der Phospholipid-, Triglycerid- und Cholesterinkonzentrationen von Lipofundin^R S 20 % ergibt folgende Werte:

Phospholipidkonzentration	1.410 mg%
Triglyceridkonzentration	60.525 mg%
Cholesterinkonzentration *)	79 mg%

Die Triglyceridkonzentration entspricht somit etwa dem 40-fachen der Phospholipidkonzentration und dem 750-fachen der Cholesterinkonzentration.

*) Nach Angaben der Herstellerfirma BRAUN, Melsungen, soll Lipofundin^R S 20 % kein Cholesterin enthalten.

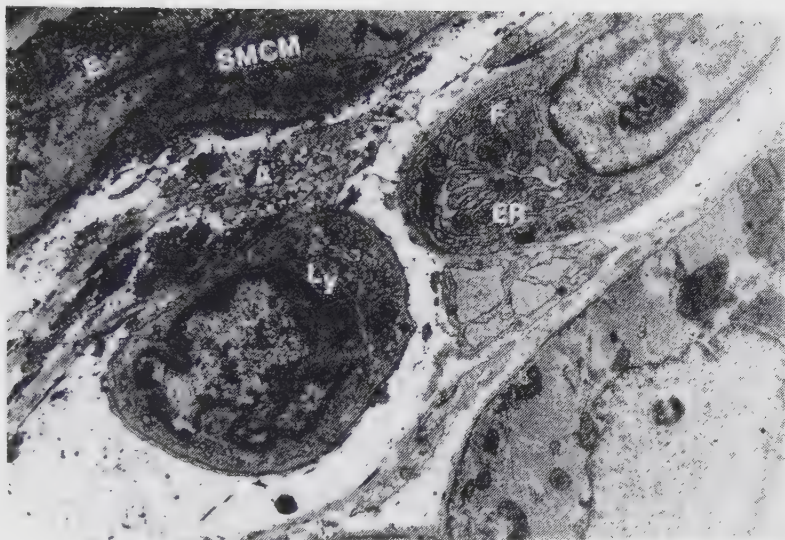


Abbildung 25: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Coronararterie eines Tieres nach 7-tägiger Lipofundungabe. Diese Coronararterie besteht aus einer Endothelzellschicht (E), einer Tunica media aus glatten Muskelzellen (SMCM) und einer Adventitia (A), in der zahlreiche Lymphocyten (Ly) und Fibroblasten (F) mit erweitertem endoplasmatischem Reticulum (ER) liegen. Vergrößerung: x 12.900.

3.2.2 Veränderungen der biochemischen Parameter nach 7-tägiger Lipofundininjektion

Verabreicht man Lipofundin ^R S 20 % in einer Dosis von 1 ml/100 g Körpergewicht über einen Zeitraum von 7 Tagen zweimal täglich, so zeigen sich im Elektropherogramm folgende Veränderungen:

Während das Elektropherogramm eines Kontrolltieres und das eines Tieres nach NaCl-Injektion einen hohen α -Lipoprotein-Peak und einen niedrigen β -Lipoprotein-Peak aufweist, sieht man im Elektropherogramm eines Tieres nach Lipofundininjektion einen niedrigen α -Lipoprotein-Peak und einen hohen β -Lipoprotein-Peak (Abb. 26). Nach Färbung an elektrophoretisch aufgetrennten Lipoproteinbanden mit Ölrot O, erhält man die gleichen Veränderungen (Abb. 27): Die α -Lipoproteinbande der Versuchstiere ist schmaler und färbt sich weniger intensiv an, die β -Lipoproteinbande ist breiter und stärker gefärbt als bei den Kontrolltieren.

Die gleichen Ergebnisse erhält man, wenn man die Lipoproteine säulenchromatographisch auftrennt (Abb. 28). Hier zeigen sich nach Verabreichung von Lipofundin eine deutliche Zunahme des β -Lipoprotein-Peaks und eine Abnahme des α -Lipoprotein-Peaks gegenüber den Tieren, die mit NaCl behandelt worden sind.



Abbildung 26: Elektrophoretische Auftrennung der Lipoproteine eines Kontrolltieres (oben), eines Tieres nach NaCl-Injektion (in der Mitte) und eines Tieres nach Lipofundininjektion (unten). Man erkennt eine deutliche Abnahme des α -Lipoprotein-Peak und eine Zunahme des β -Lipoprotein-Peak gegenüber den Kontroll- bzw. NaCl-Tieren.
LP = Lipoprotein.

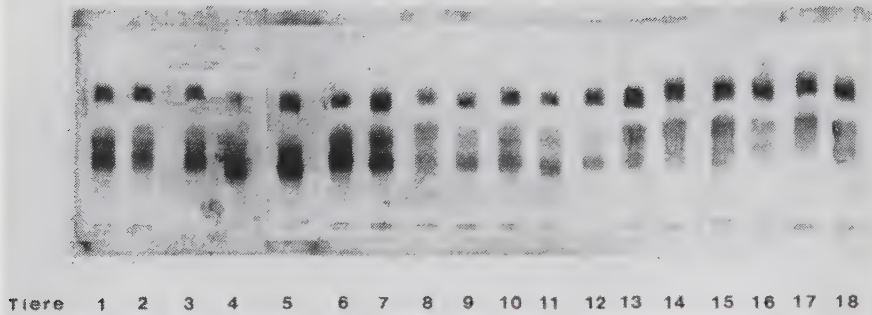


Abbildung 27: Lipoproteinmuster nach elektrophoretischer Auftrennung. Färbung: Ölrot O.
Die α -Lipoproteinbande der Lipofundintiere (1-6) ist schmaler und färbt sich weniger intensiv an, die β -Lipoproteinbande ist breiter und stärker gefärbt als bei den NaCl- (7-12) bzw. Kontrolltieren (13-18).

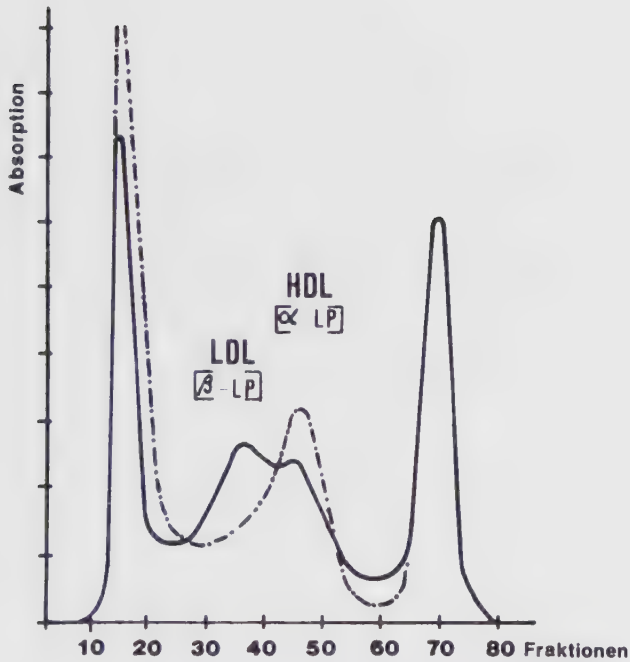


Abbildung 28: Säulenchromatographische Auftrennung der Lipoproteine. Die säulenchromatographische Auftrennung erfolgte, nachdem den Tieren Lipofundin S 20 % (—) bzw. physiologische NaCl-Lösung (-.-.-) in einer Dosis von 1 ml/100 g Körpergewicht zweimal täglich über einen Zeitraum von 7 Tagen intravenös verabreicht worden war. Man erkennt eine Zunahme der LDL- und eine Abnahme der HDL-Fraktionen gegenüber den NaCl-Tieren.
LP = Lipoprotein
HDL = high density lipoprotein
LDL = low density lipoprotein.

4. DISKUSSION

=====

In vorherigen Versuchsserien haben JELLINEK UND MITARBEITER (1977 A, B, 1978) nachgewiesen, daß nach mehrmals täglicher Verabreichung von Lipofundin über einen Zeitraum von einigen Tagen die Permeabilität der Endothelzelle zunimmt. Injiziert man Versuchstieren eine Stunde vor Tötung Lipofundin in Verbindung mit kolloidalem Eisen, so kann man mittels der Berliner-Blau-Reaktion den Eintritt des Lipid-Eisen-Komplexes aus der Blutbahn in die Endothelzellen verfolgen. Die Anwesenheit von Fe-Partikeln in der Endothelzelle läßt sich auch ohne Berliner-Blau-Reaktion elektronenmikroskopisch nachweisen. Die ersten Hinweise für eine Permeabilitätsänderung erhält man am zweiten bzw. dritten Injektionstag. Gleichzeitig findet man in den Endothel- und glatten Muskelzellen der Media hin und wieder kleine Lipidtröpfchen, ein Vorgang, aus dem JELLINEK UND MITARBEITER (JELLINEK, persönliche Mitteilung) folgerten, daß das Lipofundin, welches bei großen Injektionsdosen in hoher Konzentration im Blut vorliegt, über die Endotheltapete transmural gegen die Adventitia "perfundiert".

Es sei mir nun gestattet, die Versuchsergebnisse zu interpretieren:

Injiziert man Ratten über einen Zeitraum von mehreren Tagen zweimal täglich Lipofundin ^R S 20 %, so findet man in der Aorta disseminierte, herdförmige Intimaproliferationen. Diese aus glatten Muskelzellen bestehenden Proliferate können ein- oder mehrzellig sein. Sie sind makroskopisch nicht erkennbar. Auch nach Sudanfärbung

kann man die Proliferate makroskopisch nicht erfassen. Acht Stunden nach einer einmaligen Injektion von Lipofundin^R S 20 % kann man in den Endothelzellen der Aorta geringe Mengen von sudanpositivem Material nachweisen (JELLINEK, persönliche Mitteilung). Nach wiederholten Injektionen von Lipofundin dagegen findet man keine Lipidablagerungen im Endothel. Nur in wenigen Coronararterienästen sieht man in den Endothelzellen Lipidtröpfchen, die jedoch nicht immer eindeutig nachweisbar sind. Da es in unserer Versuchsanordnung auch um die Bestimmung exakter biochemischer Parameter ging, wurde zum Lipofundin kein kolloidales Eisen verwendet.

Die licht- und elektronenmikroskopisch erhobenen Befunde zeigen eindeutig, daß schon nach wenigen Tagen zelluläre Intimaproliferationen entstehen. In diesen Proliferaten, die im Subendothelialraum liegen, findet man schon sehr früh eine Anhäufung granulären Materials. Möglicherweise wird dieses granuläre Material sowohl von Endothelzellen, an deren Oberfläche man eine erhöhte pinocytotische Aktivität nachweisen kann, als auch von glatten Muskelzellen produziert. Die glatten Muskelzellen wandern durch die präformierten Stomata der Membrana elastica interna in den Subendothelialraum ein. Bei ultrastruktureller Betrachtung kann man an einigen Stellen beobachten, wie sich die Membrana elastica interna an der Kontaktzone mit der Muskelzelle auflösen beginnt, ein Vorgang, an dem möglicherweise Elastase, von der glatten Muskelzelle stammend, beteiligt sein könnte.

Anfangs steht der in den Subendothelialraum eingewanderte Teil der glatten Muskelzelle noch in Verbindung mit dem Zellteil, der in der Media zurückgeblieben ist. Aber auch dieser kann sich in den subendothelialen Raum vorschieben,

so daß schließlich die ganze glatte Muskelzelle im Subendothelialraum liegen kann. Bemerkenswert ist, daß sich hin und wieder der im Subendothelialraum liegende Fortsatz der glatten Muskelzelle vom Zellleib trennt und als "ghost-body" dort liegen bleibt. Diese sogenannten ghost-bodies können ödemisieren und cystös umgewandelt werden, ein Prozeß, auf den bereits KARNOVSKY UND MITARBEITER (1981) hingewiesen haben. Darüber hinaus können "ghost-bodies" zerfallen; zurück bleiben nur einige Myelinfiguren, die aus Membranen von glatten Muskelzellen hervorgegangen sind. Die im Subendothelialraum liegenden glatten Muskelzellen stehen in engem Kontakt mit den Endothelzellen; ihre Zellmembranen liegen dicht nebeneinander.

An der Oberfläche von glatten Muskelzellen, die in den Subendothelialraum eingewandert sind, sieht man eine erhöhte Produktion von "basement membrane like material". Dieses Material trennt sich sehr wahrscheinlich von der Muskelzelle ab, die manchmal noch eine zweite und dritte Schicht aus granulärem Material bilden kann.

Zur Morphogenese elastischer Fasern ist anhand unseres Versuchsmodells folgendes zu sagen:

Die morphologischen Veränderungen zeigen, daß sich die elastischen Fasern möglicherweise von den glatten Muskelzellen herleiten. Zunächst bilden sich Mikrofibrillen (JELLINEK UND MITARBEITER 1980, 1982), die sich schließlich zu elastischen Fasern umwandeln. Es handelt sich dabei um die von NEMETSCHKE UND MITARBEITER (1979) beschriebene "consecutive lamina", die man in Femoralarterien von Kindern nachweisen kann. Man nimmt an, daß sie von Fibroblasten oder glatten Muskelzellen der Media als Ersatz

für die Lamina elastica interna gebildet wird, deren Wachstum bereits bei Geburt abgeschlossen ist. Die Mikrofibrillen werden von Elastin durchtränkt, wodurch ihre Konsistenz erhöht wird. In diesem Stadium lassen sie sich noch sehr deutlich mit Phosphorwolframsäure anfärben. Mit zunehmendem Alter bzw. zunehmendem Reifegrad der elastischen Fasern nimmt die Anfärbbarkeit des Elastins ab: Die elastischen Granula färben sich noch intensiv mit Phosphorwolframsäure an. Die elastischen Lamellen zeigen anfangs noch eine starke, später aber eine zunehmend schwächer werdende Reaktion mit Phosphorwolframsäure. Sie erscheinen deshalb heller. Mit zunehmender Anfärbbarkeit werden die elastischen Lamellen morphologisch der Membrana elastica interna immer ähnlicher.

In unserer Versuchsserie finden wir bereits am 7. Injektionstag im Subendothelialraum eine große Menge an Glykosaminoglykanen. Diese werden einerseits von Endothelzellen gebildet, andererseits aber auch von in den Subendothelialraum eingewanderten glatten Muskelzellen, von denen bekannt ist, daß sie basalmembranähnliches Material produzieren. Wie bereits erwähnt, bildet schon eine einzige in den subendothelialen Raum eingewanderte glatte Muskelzelle neue elastische Fasern. Auch OAKES UND MITARBEITER (1982) haben in Muskelzellzüchtungen die Bildung von elastischen und kollagenen Fasern durch glatte Muskelzellen nachweisen können.

Vergleicht man die Versuchsergebnisse nach Lipofundin-gabe mit denen nach Cholesterinfütterung (ANITSCHKOW 1913 A, B; BAUMGARTNER UND STUDER 1966; STILL 1967; COOKE UND SMITH 1967; AGOSTINI ET AL. 1974; DAVENPORT ET AL. 1981), so treten erhebliche morphologische Unterschiede auf. Im Lipofundinmodell findet man ultra-

strukturell zelluläre Plaquesbildungen, also eher fibromuskuloelastische Veränderungen, während nach Cholesterinfütterung mehr schaumzellige atheromatöse Veränderungen auftreten. Zwar beobachtet man auch nach Cholesterinfütterung eine Neubildung von Grundsubstanz und eine Einwanderung glatter Muskelzellen in den Subendothelialraum (HOFMANN UND DENG 1982), aber die Lipideinlagerung in Endothel- und glatten Muskelzellen prävaliert.

Nach Lipofundungabe zeigt die Aorta typische Veränderungen. Die glatten Muskelzellen der Media, die nach STAUBESAND (1977, 1978) modifizierten Muskelzellen (K- und M-Myocyten) darstellen, spielen eine wichtige Rolle bei der Entstehung der zellulären Plaques (PARKER 1960; GEER ET AL. 1961; THOMAS ET AL. 1963; FRENCH ET AL. 1963; DAUD ET AL. 1964 A; GEER 1965 A, B; PARKER UND ODLAND 1966 A; WISSLER 1967; GHIDONI UND O'NEAL 1967; HESS UND STÄUBLI 1969; RETTIG 1979; BJÖRKERUD 1979 UND 1980; ROSS 1971, 1973, 1979; HAUST 1971). Sie sind zum größten Teil funktionsfähig, aber nicht aktiv. Erst in enger Nachbarschaft zur Membrana elastica interna steigern sie ihre Mobilität und schieben Fortsätze durch die Fenestrae der Membrana elastica interna in den Subendothelialraum vor (KARNOVSKY 1981).

Die Arterien vom muskulären Typ (Coronararterien) zeigen bei unserer Versuchsanordnung nur minimale Veränderungen. Neben einigen periadventitiellen Myocyten, Fibroblasten und vereinzelt Lymphocyten liegen keine auffälligen strukturellen Veränderungen vor. Die periadventitiellen Zellanhäufungen sind in der Mehrzahl der von uns elektronenmikroskopisch untersuchten Gefäße nachweisbar.

Da jedoch die glatten Muskelzellen nahe der Membrana elastica interna ihre Aktivität nicht steigern und keine Fortsätze in den Subendothelialraum vorschieben, ist es zweifelhaft, ob die Veränderungen in der Adventitia der Coronararterien auf das Lipofundin zurückgeführt werden können.

Vergleicht man zusammenfassend die Arterien vom muskulären Typus mit denen vom elastischen Typus, so kann man feststellen, daß das Lipofundin nur in den Arterien vom elastischen Typus Muskelzellproliferate induziert. Die nur geringgradigen Veränderungen in Arterien vom muskulären Typus sind sehr wahrscheinlich unspezifisch und können nicht eindeutig auf das Lipofundin zurückgeführt werden.

Eine weitere Besonderheit des Lipofundin-Modells ist die Tatsache, daß es bereits nach 7 Tagen zur Proliferation glatter Muskelzellen und zur Bildung elastischer und kollagener Fasern kommt.

Bei Cholesterinfütterung im Tierexperiment dauert es mindestens 6 Wochen, bei hypertonen Versuchsserien 3, 4 oder 6 Wochen, abhängig vom Grad der Hypertonie, bis sich elastische und kollagene Fasern bilden. Bei experimentell erzeugten entzündlichen Prozessen in Gefäßen treten elastische und kollagene Fasern erst 14 Tage nach dem Abklingen der Entzündung auf. Nach Einwirkung von Salzsäure auf die Gefäßwand findet man elastische und kollagene Fasern zwar schon nach einer Woche, aber eine Proliferation von glatten Muskelzellen erst nach 2 bis 3 Wochen (JELLINEK, persönliche Mitteilung).

Was die Rolle der Endothelzellen für die Herdbildungen in der Gefäßwand angeht, so läßt sich nach Auswertung der ultrastrukturellen Untersuchungen sagen, daß sie keine nennenswerten Veränderungen aufweisen. JELLINEK ET AL. (1980/1982) haben bei ähnlichen Versuchen Lipofundintröpfchen in der Endothelzelle nachweisen können. Dies scheint aber ohne Bedeutung zu sein, da die Zellorganellen der Endothelzellen sowie ihre gesamte Struktur unverändert sind. Bemerkenswert ist aber eine erhöhte pinocytotische Aktivität zu beiden Seiten der Endothelzelle, was offenbar mit dem erhöhten Transport von Lipidmolekülen, den man mit Eisen-Tracern - wie bereits erwähnt - gut nachweisen kann, zusammenhängt. Darüber hinaus könnte aber auch die erhöhte pinocytotische Aktivität mit der vermehrten Bildung von Glykosaminoglykanen in Einklang zu bringen sein. Endothelzellläsionen, wie sie von einigen Autoren nach Cholesterinfütterung beschrieben worden waren, sind in unserem Versuch nicht nachweisbar.

Wie lassen sich nun unsere Versuchsergebnisse in das Generalkonzept der Atherogenese einordnen ?

Seit etwa 20 Jahren nimmt die glatte Gefäßmuskelzelle eine zentrale Stellung in der Pathogenese der Arteriosklerose ein. Nach der heute noch gültigen Beschreibung der glatten Muskelzellen durch Theodor LANGHANS im Jahre 1866 spricht man von den "Langhanszellen" der Intima. Lange Zeit galten diese Zellen als stabile Zellen, deren Hauptaufgaben in der Regulation des Gefäßtonus bestehen. Noch in den 20-er Jahren vertrat man die Meinung, daß Fibroblasten die elastischen Fasern in der Gefäßwand bilden (KROMPECHER 1928 UND 1966). Diese Vorstellung hielt sich etwa bis in die 60-er Jahre. HAUST und zur

gleichen Zeit auch JELLINEK UND MITARBEITER haben 1961 bereits erkannt, daß es bei Beschädigung der Aortenwand zu einer typischen Muskelzellproliferation kommt (HAUST 1960, JELLINEK, persönliche Mitteilung THOMAS ET AL. 1963, 1968; SZEMENYEI UND JELLINEK, persönliche Mitteilung).

Andere Autoren (GHIDONI UND O'NEAL 1967) geben an, in sonst unveränderten menschlichen Gefäßen Zellen gefunden zu haben, die morphologisch den glatten Muskelzellen ähnlich seien und den subendothelialen Raum ausfüllten. Sie bezeichneten diese Zellen als "Myofibrocyten", da sie glaubten, daß diese aus Myocyten oder aus Fibrocyten hervorgingen. Seit dieser Zeit haben sich zahlreiche Forscher weltweit mit Abstammung und Funktion von glatten Muskelzellen befaßt. Einige Autoren hielten diese Zellen nicht für glatte Muskelzellen, sondern für Abkömmlinge von Makrophagen, die aus der Blutbahn in die Gefäßwand übertreten (LEARY 1941; GEER ET AL. 1958; POOLE ET AL. 1958 A UND B; STILL UND O'NEAL 1962; STILL 1963; STILL UND MARIOTT 1964; MARSHALL UND O'NEAL 1966 A UND B; BALIS ET AL. 1964; GEER UND GUIDRY 1964; GEER UND HAUST 1972; GERRITY 1981 A UND B). Man nahm an, daß diese Blutzellen an den Endothelzellen haften bleiben und zwischen den Junctionen in den Subendothelialraum gelangen.

Erst relativ spät wurde postuliert, daß die glatten Muskelzellen nach Form und Funktion variabel sind (GEER ET AL. 1961; LAITINEN 1963; STILL UND MARIOTT 1964; BALIS ET AL. 1964; GEER 1965 A UND B; IMAI ET AL. 1966; GHIDONI UND O'NEAL 1967; COOKE UND SMITH 1968).

Glatte Muskelzellen könnten ihre Stoffwechselsituation den jeweiligen Bedingungen anpassen und unter bestimmten Voraussetzungen ein basalmembranähnliches Material bilden.

NIKOLOV UND MITARBEITER (1977) folgerten aus ihren Untersuchungsergebnissen:

"Die modifizierte glatte Muskelzelle trennt sich von den Mediamuskelzellen ab und schiebt sich in den Subendothelialraum vor. Sie ist reich an Organellen und besitzt ein stark erweitertes Ergastoplasma mit feinem granulärem Material, das dann in die Umgebung ausgeschüttet und in die Grundsubstanz umgewandelt wird".

STAUBESAND (1977, 1978) unterscheidet zwischen K- und M-Myocyten. WISSLER (1962, 1967 UND 1968) hat mit Hilfe der Immunfluoreszenz, d.h. mit FITC-markiertem Antiaktomyosin die Proliferation von glatten Gefäßmuskelzellen nachgewiesen. Auch KNIERIEM (1967, 1968, 1970) und HOFMANN (1974, 1976) haben mit gleicher Methode die glatten Muskelzellen identifiziert.

Nach DOERRs Vorstellungen handelt es sich bei der "juvenilen Coronarsklerose" um polytope, aus glatten Muskelzellen bestehende, die Gefäßwand stenosierende Proliferationen. Die zellulären Proliferationen gelten als monomorphe Antwort des "intimalen Mesenchymschwammes" auf die verschiedenen Insulte. Anzuführen sind: Blutdruckschwankungen, krisenhafte hormonelle Umstellungen, Nikotinabusus, fieberhafte Allgemeininfektionen (bakterieller und viraler Ätiologie). Auch hypoxische Krisen werden verantwortlich gemacht derart, daß dadurch Quellungsnekrosen von einzelnen glatten Muskelzellen bis hin zu Gruppennekrosen auftreten können. Alsdann kann es zur Anreicherung

basophiler Substanzen, zur "Ödemsklerose" mit Deckplattenbildung und zu mikro- und makrothrombotischen Abscheidungen kommen.

BENDITT UND BENDITT (1973) sowie BENDITT (1977 A UND B) stellen sich die Entstehung der arteriosklerotischen Gefäßwandveränderungen durch Wucherung einer mutierten glatten Muskelzelle vor, d.h. sogenannte Plaques sollen monoclonaler Herkunft sein. Die systemische Proliferation von glatten Muskelzellen vergleicht die Arbeitsgruppe um BENDITT mit einem gutartigen Tumor. Anstoß zur Mutation einzelner Zellen, die dann zu wuchern beginnen, könnte in biologischen (Toxine, Viren), chemischen Noxen (Rauchen, Trinken) wie auch in physikalischen Reizen liegen.

Die Arbeitsgruppe um ROSS (1974, 1977) mißt den Thrombocyten für die Entstehung arteriosklerotischer Gefäßveränderungen eine wichtige Funktion bei: Läsionen der Endotheltapete schaffen die Voraussetzung für die Adhäsion, Aggregation und Fusion von Blutplättchen. Dabei wird ein Faktor freigesetzt, der in Verbindung mit Plasmabestandteilen Zugang in die Arterienwand findet und dort eine Proliferation von glatten Muskelzellen bewirkt.

ROSS (1978) hat diesen Plättchenfaktor als ein Peptid mit niedrigem Molekulargewicht von 13.000 - 23.000 identifiziert. Das Peptid ist im gesamten Blutserum vorhanden und wirkt, wie ROSS überzeugend dargestellt hat, in der Gewebekultur unter definierten Bedingungen als Wachstumsfaktor von glatten Muskelzellen.

Betrachtet man die weltweit erarbeiteten und auch weitgehend anerkannten Forschungsergebnisse auf dem weiten und sicher noch nicht bis in die letzten Einzelheiten verstandenen Feld der Arteriosklerose der letzten Jahrzehnte,

so darf man der glatten Gefäßmuskelzelle eine dominierende Rolle in der Atherogenese zuschreiben. Diese kann - durch welche Reize auch immer - zur Wanderung von der Media zur Intima veranlaßt und darüber hinaus zur Proliferation aktiviert werden.

Es stellt sich nun die Frage, welche Faktoren in unserem Versuch zur Proliferation der glatten Muskelzellen führen könnten. Ist dem Lipofundin eine direkte proliferative Wirkung zuzuschreiben, oder steht die Änderung des HDL/LDL-Quotienten, der als atherogener Index gilt, im Vordergrund ?

Um unsere biochemischen Befunde interpretieren zu können, müssen wir uns zunächst mit dem physiologischen Lipidstoffwechsel der Ratte beschäftigen. Vergleicht man die Lipoproteinzusammensetzung im Plasma zwischen verschiedenen Rattenstämmen, so findet man große Unterschiede (CHAPMAN 1980). Bei allen Stämmen jedoch dominieren die HDL- bzw. α -Lipoproteine, d.h. der HDL/LDL-Quotient ist groß, was mit der hohen Resistenz der Ratte gegenüber Arteriosklerose korreliert. Dennoch ist es möglich, diesen atherogenen Index so zu verändern, daß arteriosklerotische Plaques entstehen. Gesättigte Fettsäuren (z. B. Kokos- und Maisfett), Cholesterin, Gallensäuren und Thyreostatika führen zu einer Hypercholesterinämie und damit zu arteriosklerotischen Läsionen (WISSLER ET AL. 1954; MALINOW ET AL. 1954; FILLIAS ET AL. 1956). Verfütterung von Cholesterin an Ratten führt zu ausgeprägten Lipoproteinveränderungen (NARAYAN 1971; LASSER ET AL. 1973). Diese sind charakterisiert durch eine Zunahme der LDL und VLDL, durch das Erscheinen einer zusätzlichen HDL-Fraktion, genannt HDL_c , und durch eine

Abnahme der HDL (MAHLEY ET AL. 1977). THOMPSON UND MITARBEITER (1974) fanden eine verminderte VLDL- und erhöhte LDL-Konzentration im menschlichen Plasma nach intravenöser Verabreichung von Sojabohnenphosphatiden und -triglyceriden. Ähnliche Veränderungen zeigen sich im Plasma unserer Versuchsserie, die Lipofundin^R S 20 % in Form von intravenösen Injektionen erhielten.

Es stellt sich nun die Frage, ob die ermittelten biochemischen Befunde mit unseren morphologischen Resultaten in einen kausalen Zusammenhang gebracht werden können.

JELLINEK UND MITARBEITER (JELLINEK, persönliche Mitteilung) haben die direkte Wirkung von Lipofundin^R S 20 % auf Zellen in Gewebekulturen untersucht, indem sie eine 10 %-ige Lipofundinlösung zu dem Zellmedium hinzufügten. Es fand sich weder bei den Endothelzellen noch bei den glatten Muskelzellen eine erhöhte Wachstumsrate. Aus diesen Ergebnissen folgerten sie, daß Lipofundin, in dieser Form verabreicht, keine direkte proliferative Wirkung sowohl auf Endothelzellen als auch auf glatte Muskelzellen zeigt.

Auch bei der familiären Hyperlipoproteinämie Typ I nach FREDRICKSON UND LEVY kann es aufgrund eines Defektes des Postheparin-Lipoproteinlipasesystems, und zwar speziell einer Triglyceridlipase (GRETEN 1976), postbrandial zu extrem hohen Triglyceridspiegeln im Plasma kommen, die jedoch keine arteriosklerotischen Gefäßveränderungen induzieren.

JELLINEK UND MITARBEITER (JELLINEK, persönliche Mitteilung) haben in früheren Versuchen Lipidtröpfchen sowohl in den Endothelzellen als auch den glatten Muskelzellen der Media gefunden, ein Vorgang, aus dem sie folgerten, daß das

Lipofundin, das bei so großen Injektionsdosen in hoher Konzentration im Blut vorliegt, durch die Endotheltapete transmural gegen die Adventitia "perfundiert". Das intakte Endothel stellt jedoch eine Barriere dar, die mittels spezieller Cytoplasmastrukturen einen kontrollierten Stofftransport erlaubt (HÜTTNER ET AL. 1973; SIMIONESCU ET AL. 1975 A UND B; SCHWARTZ ET AL. 1978; HAMMERSEN 1978; SCHNEEBERGER 1982). Partikel unterhalb eines Durchmesser von etwa 750 Å können über Vesikel aus dem Gefäßlumen in die Intima transportiert werden (STEIN UND STEIN 1973 A; STEIN UND STEIN 1973 B). Demgegenüber können bei Endotheldefekten auch Partikel mit größerem Durchmesser, z. B. Chylomikronen mit einer durchschnittlichen Teilchengröße von 1 µm in die Gefäßwand eindringen. Die Lipofundinmoleküle, die im Plasma in Form von Mizellen, bestehend aus Triglyceriden, einer hydrophilen Phosphatidhülle und einem Proteinhülle zirkulieren und eine Teilchengröße von etwa 1 µm haben, könnten daher nur durch Endotheldefekte in die Gefäßwand eindringen. Da wir also in unseren Versuchen keine Endotheldefekte bei den Versuchstieren nachgewiesen haben, ist es unwahrscheinlich, daß das Lipofundin die Endothelbarriere überwunden hat und durch die Gefäßwand "perfundiert". Möglicherweise geht der formal-pathogenetische Weg über die Perfusion kleiner Partikel, die nach Verabreichung von Lipofundin im Plasma entstehen.

Anerkennt man die These, daß die α -Lipoproteine (HDL) eine proektive, die β -Lipoproteine (LDL) eine fördernde Wirkung in der Atherogenese besitzen, so könnte man annehmen, daß die Umkehr des atherogenen Index zugunsten der β -Lipoproteine die beobachteten arteriosklerotischen Veränderungen induziert hat. Dies würde im Einklang zu den Arbeiten von FISCHER-DZOGA ET AL. (1974) stehen, nach denen die Zugabe von LDL aus hyperlipämischen Seren in das Zellmedium von Gewebekulturen zur Proliferation von glatten Muskelzellen geführt hat.

Da sich im Bereiche der Intima eine ständige, vom Zentrum zur Peripherie und vom Gefäßlumen zur Adventitia hingerichtete Flüssigkeitsperfusion vollzieht (DOERR 1963; BLEYL 1969; CREMER UND MÜLLER 1973), und da die LDL-Konzentration in dem Flüssigkeitskompartiment mit derjenigen des Blutplasmas korreliert, wäre es verständlich, daß das allgemein als atherogen angesehene LDL bei einer entsprechenden Vermehrung im Blutplasma auf diesem Wege zur Proliferation von glatten Muskelzellen führen könnte.

Dies wiederum würde die Lipidtheorie bestätigen, die von ASSMANN (1982) wie folgt formuliert wurde.

An der Entstehung atherosklerotischer Plaques sind im wesentlichen drei Vorgänge beteiligt:

1. Erhöhter Transfer von Plasmalipoproteinen aus dem Blut in die Arterienwand,
2. zelluläre und extrazelluläre Akkumulation von Lipiden in der Arterienwand,
3. verminderter Abtransport von Lipiden aus der Arterienwand.

Die Frage, weshalb nur die Arterien vom elastischen Typus morphologische Veränderungen aufweisen, nicht aber die Arterien vom muskulären Typus, läßt sich nur schwer beantworten. Möglicherweise wirken die elastischen Lamellen bei der Diffusion der Plasmalipoproteine durch die Gefäßwand als Filter. Dadurch käme es zur Akkumulation der Lipoproteine, die dann einen proliferativen Reiz auf die glatten Muskelzellen ausüben könnten (FISCHER-DZOGA 1979).

Fassen wir zusammen: Unter den zahlreichen ätiologischen Faktoren, die aufgrund tierexperimenteller, biochemischer und klinischer Untersuchungsergebnisse zur Arteriosklerose führen und daher als Risikofaktoren betrachtet werden, kristallisiert sich in unserem Versuchsmodell die Dyslipoproteinämie als wichtiger Faktor heraus. Durch Zunahme der β -Lipoproteine (LDL), die als obligat atherogen betrachtet werden und durch Abnahme der α -Lipoproteine (HDL), die man als protektiv bezeichnet, kommt es zu einer Erniedrigung des atherogenen Index. Ob die ausgeprägten arteriosklerotischen Veränderungen allein auf die Verschiebung der Plasmalipoproteine zugunsten der LDL zurückgeführt werden können, oder ob es sich vielmehr um ein Zusammenwirken mehrerer Faktoren handelt (SCHETTLER UND MÖRL 1978; ASSMANN 1982), kann aufgrund unserer Versuchsergebnisse nicht beantwortet werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

=====

Im Tierversuch kann man nach Verabreichung von Lipofundin^R S 20 % schon nach kurzer Zeit ausgeprägte Veränderungen in der Gefäßstruktur und im Lipidstoffwechsel beobachten. Bei Lipofundin handelt es sich um eine stabile Fettemulsion, bestehend aus Sojabohnenöl, einer Fraktion von Sojaphosphatiden und einem geringen Polyol-Anteil. Sojabohnenöl ist zu etwa 85 % zusammengesetzt aus Triglyceriden ungesättigter Fettsäuren, unter denen die essentielle Linolsäure den höchsten Anteil hat.

Nach 7-tägiger Lipofundgabe findet man in der Aorta disseminierte, herdförmige, aus glatten Muskelzellen bestehende Intimaproliferate. Ultrastrukturell sieht man im Subendothelialraum elastische Granula und elastische Lamellen, die von den in den Subendothelialraum eingewanderten glatten Muskelzellen produziert wurden. Zunächst bilden sich Mikrofibrillen, die sich schließlich zu elastischen Fasern umwandeln. Die Mikrofibrillen werden von Elastin durchtränkt, wodurch ihre Konsistenz erhöht wird. In diesem Stadium lassen sie sich noch sehr deutlich mit Phosphorwolframsäure anfärben, während die Anfärbbarkeit des Elastins mit zunehmendem Reifegrad der elastischen Fasern abnimmt. Diese morphologischen Veränderungen konnten nur in Arterien vom elastischen Typus beobachtet werden, nicht aber in Arterien vom muskulären Typus (Coronararterien). Im Plasma findet man nach 7-tägiger Lipofundgabe eine verminderte Konzentration der α -Lipoproteine (HDL) und eine erhöhte Konzentration der β -Lipoproteine (LDL), während die Triglycerid- und Phospholipidkonzentrationen im Normbereich bleiben.

Unter den zahlreichen Faktoren, die arteriosklerotische Gefäßveränderungen induzieren können, kristallisiert sich in unserem Versuchsmodell die Dyslipoproteinämie als wichtigster pathogenetischer Faktor heraus. Durch Zunahme der β -Lipoproteine (LDL), die als obligat atherogen betrachtet werden, und durch Abnahme der α -Lipoproteine (HDL), die man als protektiv bezeichnet, kommt es zu einer Erniedrigung des "atherogenen Index". Möglicherweise geht der formalpathogenetische Weg über die "Perfusion" dieser Lipoproteine, die dabei an den elastischen Lamellen akkumulieren und einen Proliferationsreiz auf die glatten Muskelzellen der Media ausüben könnten. Dies würde die seinerzeit von DOERR konzipierte Perfusionstheorie zur Entstehung der Arteriosklerose als pathogenetisches Prinzip erneut bestätigen.

"The proliferation of smooth muscle cells after short-time application of Lipofundin^R S 20 % - a light and electronmicroscopical study".

6. SUMMARY =====

In animal experiments pronounced in vessel structure and lipid metabolism can be observed soon after application of Lipofundin^R S 20 per cent. Lipofundin is a stable lipidemulsion consisting of soya bean oil, a fraction of soya phosphatides, and a minimal polyol fraction. Soya bean oil consists of approximately 85 per cent triglycerides derived from desaturated fatty acids, the most important of them being linol acid.

After a 7 days of Lipofundin application the aorta shows disseminated miliar proliferations of the intima consisting of smooth muscle cells. At the ultrastructural level elastic granules and elastic lamellae can be observed within the subendothelial space originating from immigrated smooth muscle cells. At the beginning of this process microfibrils are synthesized that change to elastic fibres. These microfibrils are coated with elastin by that acquiring higher consistency. At that time they still are strongly tingible with phosphor wolframic acid, while a constant loss of tingibility of the elastic fibres correlates with maturation.

These morphologic alterations could only be observed in arteries of the elastic type but not in those of the muscular type (e.g. coronary arteries). After a 7 days of treatment with Lipofundin there is a diminished concentration of α -lipoproteins (HDL) in

the plasma, while β -lipoprotein levels (LDL) are raised and triglycerid and phospholipid concentrations stay within normal limits.

Among the numerous factors being capable to reduce arteriosclerotic changes dyslipoproteinemia seems to play the central pathogenetic role. This view is supported by the results of the presented experimental setting.

An increase of β -lipoproteins (LDL) being regarded as obligatory atherogenic and a decrease of α -lipoproteins (HDL) being said to be protective lead to a decrease of the "atherogeneic index". Possibly the formal pathogenetic pathway leads over the "perfusion" of β -lipoproteins that precipitate at the elastic lamellae of the aorta exerting a proliferative stimulus on the smooth muscle cells of the media. This again would support the perfusion theory of arteriosclerosis once set up by W. DOERR.

7. LITERATURVERZEICHNIS

=====

- Agostini, B.,
E. Stange,
W.-W. Höpker und
J. Papenberg:
Diät-induzierte Lipoproteinver-
änderungen und ihre mögliche Be-
deutung in der Atherogenese beim
Kaninchen.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 58, 555
(1974).
- Anitschkow, N.:
Über die Veränderungen der Kaninchen-
aorta bei experimenteller Cholesterin-
steatose.
Beitr. path. Anat. 56, 379 (1913 a).
- Anitschkow, N. und
S. Chalатов:
Über experimentelle Cholesterin-
steatose und ihre Bedeutung für
die Entstehung einiger pathologi-
scher Prozesse.
Zbl. Path. 24, 1-7 (1913 b).
- Anitschkow, N.:
Experimental arteriosclerosis in
animals.
In: Arteriosclerosis: A survey of
the problem.
Cowdry, E. V., Ed., Macmillan,
New York 1933.
- Assmann, G.:
Lipidstoffwechsel und Atherosklerose.
Schattauer 1982.

- Bäßler, K. H.: Empfehlungen zur parenteralen Ernährung.
Med. u. Ern. 201-205 (1970).
- Balis, J. V.,
M. D. Haust and
R. H. Morek: Electron microscopic studies in human atherosclerosis; cellular elements in aortic fatty streaks.
Exp. molec. Path. 3, 511-525 (1964).
- Baumgartner, H.R. und
A. Studer: Folgen des Gefäßkatheterismus am normo- und hypercholesterinämischen Kaninchen.
Pathol. Microbiol. Basel 29, 393-405 (1966).
- Benditt, E. P. and
I. M. Benditt: Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 70, 1753-1761 (1973).
- Benditt, E. P.: Implications of the monoclonal character of human atherosclerotic plaques.
Am. J. Pathol. 86, 693-702 (1977).
- Benditt, E. P.: The origin of atherosclerosis.
Sci. Am. 2, 74-85 (1977).
- Björkerud, S. U.: Mechanisms of atherosclerosis.
Pathobiology Annual 9, 227-301 (1979).
- Björkerud, S. U.: Patterns of repair in the arterial wall and their possible relationship to growth characteristics of smooth muscle and endothelium.
Acta Med. Scand (Suppl) 642, 146-150 (1980).

Bleyl, U. und
K. Wegener:

Zur aktuellen Situation der Arterio-
skleroselehre.
Bemerkungen zur Perfusionstheorie
von W. Doerr.
Sonderdruck aus Triangel.
Sandoz-Zeitschrift für Med. Wissensch.
9, 9-18 (1969).

Brown, M. S. and
Goldstein, J. S.:

Receptor mediated control of
cholesterol metabolism.
Science 191, 150-154 (1976).

Chapman, M. J.:

Animal lipoproteins: chemistry,
structure and comparative aspects.
J. Lipid Res. 21, 789-853 (1980).

Cooke, P. H. and
S. C. Smith:

Smooth muscle cells: the source of
foam cells in atherosclerotic withe
carneau pigeons.
Exp. molec. Path. 8, 171-189 (1968).

Cremer, H. und
N. Müller:

Morphologische Veränderungen an der
Rattenaorta nach experimenteller Liga-
tur des Ductus thoracicus.
Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.
359, 223-229 (1973).

Dahme, E.:

Gefäßkrankheiten.
In: Handbuch der speziellen patholo-
gischen Anatomie der Haustiere.
3. Auflage Bd. 2.
Herausgeber: Joest, E.
Paul-Parey, Berlin, Hamburg 1962.

- Dahme, E.: Die nichtentzündlichen Blutgefäß-
erkrankungen.
Vortrag. 10. Arbeitstag. Vet. Path.
23. Mai 1961 in Münster.
Berliner Münchner tierärztl. Wschr.
75, 101-107 (1962).
- Dahme, E.: Die Arteriosklerose beim europäischen
Wildschwein.
Acta Zool. Path. 48, 187-195
(1969).
- Daoud, A. S.,
J. Jarmoloch,
O. Zumbo and
K. Fani: Possible medial origin of intimal
smooth muscle cells in pre-atheroma
phase of atherosclerosis.
Fed. Proc. 23, 195 (1964).
- Davenport, W. D.,
J. R. Ball and
C. R. Ball: Diet-induced atrial endothelial
damage. A scanning electronmicroscopic
study.
Atherosclerosis 40, 145-152 (1981).
- Doerr, W.: Morphologische Untersuchungen zur
Entstehung der Aortensklerose.
Dtsch. med. Wschr. 85. Jg., 32,
1401-1405 (1960).
- Doerr, W.: Perfusionstheorie der Arteriosklerose.
Thieme, Stuttgart 1963.
- Doerr, W.: Gangarten der Arteriosklerose.
Sitzungsber. Akad. d. Wissenschaften,
math.-naturw. Kl. Abh. 4, Springer:
Berlin-Heidelberg-New York 1964.

- Doerr, W.: Herz und Gefäße.
In: Organpathologie (herausgeg. von W. Doerr), Bd. 1, 94-123, Thieme, Stuttgart 1974.
- Doerr, W.,
W.-W. Höpker und
J. A. Rossner: Neues und Kritisches vom und zum Herzinfarkt.
S. ber. Heidelberger Akademie der Wissenschaften mathem.-naturw. Kl. Abh. 4, Springer: Berlin-Heidelberg-New York 1974 b.
- Doerr, W.: Arteriosklerose.
Pathologische Anatomie.
Langenbecks Arch. Chir. 339, 137-151 (1975).
- Doerr, W.: Arteriosclerosis without end.
Virchows Arch. A Path. Anat. and Histol. 380, 91-106 (1978).
- Doerr, W.: Pathologie des Gefäßsystems.
Verh. dtsh. Ges. Path. 62. Tgg. 537-539 (1978).
- Doerr, W.: Die Entwicklung der Arteriosklerose in morphologischer Sicht.
In: Gefäßwand, herausgegeben von H. Ehringer, E. Betz, A. Bollinger und E. Deutsch.
Witzstrock, Baden-Baden 1979.

- Deng Z. und
W. Hofmann:
Ist die Fütterungsatheromatose
des Kaninchens mit der Arterio-
sklerose des Menschen vergleich-
bar ?
Acta Academicae Medicinae Wuhan
2, 65-75 (1982).
- De Duve, C.:
The concept of lysosomes.
Verh. dtsh. Ges. Path. 60. Tgg.
192-193 (1976).
- Fischer-Dzoga, K.,
R. W. Wissler and
A. M. Scanu:
Increased cell proliferation of
aortic smooth muscle cells induced
by varying degrees of hyperlipemia
and by lipoprotein fractions.
Suppl. III to Circ. Vols. 49+50,
263 (1974).
- Fischer-Dzoga, K.:
Cellular proliferation cellular
death, and atherogenesis.
Artery 5, 222-236 (1979).
- Fillias, L. C.,
S. B. Andrus,
G. V. Mann and
F. J. Stare:
Experimental production of gross
atherosclerosis in the rat.
J. Exp. Med. 104, 539-554 (1956).
- French, J. E.,
M. A. Jennings,
J. C. F. Poole,
D. S. Robinson and
H. W. Florey:
Intimal changes in the arteries of
aging swine.
Proc. Roy. Soc. B 158, 24-42
(1963).

- Geer, J. C.,
F. R. Skelton and
H. C. MacGill:
Observations with the electron
microscope of arterial lesions
in hypertensive rats.
Fed. Proc. 17, 438 (1958).
- Geer, J. C.,
H. C. McGill and
J. P. Strong:
The fine structure of human
atherosclerotic lesions.
Amer. J. Path. 38, 263-288 (1961).
- Geer, J. C. and
M. A. Guidry:
Cholesterol ester composition and
morphology of human normal intima
and fatty streaks.
Exp. molec. Path. 3, 485-499 (1964).
- Geer, J. C.:
Fine structure of human aortic
intimal thickening and fatty streaks.
Lab. Invest. 14, 1764-1783 (1965 a).
- Geer, J. C.:
Fine structure of canine experimental
atherosclerosis.
Amer. J. Path. 47, 241-269 (1965 b).
- Geer, J. C. and
M. D. Haust:
Smooth muscle cells in athero-
sclerosis.
Monogr. Atheroscler. 2, 1-104 (1972).
- Gerrity, R. G.:
The role of the monocyte in athero-
genesis. Transition of blood-borne
monocytes into foam cells in fatty
lesions.
Am. J. Path. 103, 181-190 (1981 a).
- Gerrity, R. G.:
The role of the monocyte in athero-
genesis. Migration of foam cells from
atherosclerosis lesions.
Am. J. Path. 103, 191-200 (1981 b).

- Ghidoni, J. J. and
R. M. O'Neal:
Recent advances in molecular
pathology: a review ultrastructure
of human atheroma.
Exp. molec. Path. 7, 378-400 (1967).
- Greten, H. und
W. V. Brown:
Hyperlipoproteinämie Typ I.
In: Handbuch der Inneren Medizin,
Bd. VII/4, herausg. von G. Schettler,
G. Schlierf, D. Seidel.
Springer 1976.
- Hammersen, F.:
Zum Feinbau der Passagewege für den
transintimalen Einstrom von Plasma-
bestandteilen.
Med. Welt 29, 392-398 (1978).
- Haust, M. D. and
R. H. More:
The role of smooth muscle cells in
the fibrogenesis of arteriosclerosis.
Amer. J. Path. 37, 377-390 (1960).
- Haust, M. D.:
The morphogenesis and fate of
potential and early atherosclerotic
lesions in man.
Human Pathology 2, 1-29 (1971).
- Hess, R. and
W. Stäubli:
Ultrastructure of vascular changes.
In: Schettler, G., Boyd G. S. (Eds.):
Atherosclerosis 2, 49-71 (1969).
- Hofmann, W.:
Zur vergleichenden Pathologie der
Frühformen der Aortensklerose.
Virchows Arch. Abt. A Path. Anat.
352, 246-254 (1971 a).

- Hofmann, W.: Zur vergleichenden Pathologie nichtentzündlicher Gefäßerkrankungen bei Mensch und Tier. *Ärztl. Forsch.* 5, 154-166 (1971 b).
- Hofmann, W. and D. Goger: Report on the differentiation of vascular smooth muscle cells with the aid of immunfluorescence. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat. Histol.* 363, 225-231 (1974).
- Hofmann, W. and D. Goger: A simple method for differentiating vascular smooth muscle cells and fibroblasts in tissue culture. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat. Histol.* 370, 77-83 (1976).
- Höpker, W.-W., W. Hofmann, J. Weiß, R. Zimmermann, E. Walter, H. A. Dittmar und A. Weizel: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung von Acetylsalicylsäure, hochgradiger Bewegungseinschränkung und cholesterinreicher Diät auf die Atheromatose der Kaninchenaorta. *Virchows Arch. Abt. A Path. Anat. Histol.* 367, 307-323 (1975).
- Horsch, A. E. Ritz, C. C. Heuck, W. Hofmann, E. Kühne and M. Bisson: Atherogenesis in experimental uremia. *Atherosclerosis* 40, 279-289 (1981).

- Hüttner, J.,
M. Boutet and
R. H. More: Studies on protein passage through
arterial endothelium.
I. Structural correlates of
permeability in rat arterial
endothelium.
Lab. Invest. 28, No. 6, 672-677
(1973).
- Imai, H.,
K. T. Lee,
S. Pastori,
E. Paulilio,
R. Florentin and
W. A. Thomas: Atherosclerosis in rabbits.
Architectural and subcellular
alterations of smooth muscle cells
of aortas in response to hyper-
lipemia.
Exp. molec. Path. 5, 273-310 (1966).
- Jellinek, H.: The use of a twin tracer technique
for the study of the movement of
exogenous particles through the
hypoxic wall and their uptake by
adventitial lymphatics.
Folia Angiologica 25, 155-161 (1977).
- Jellinek, H.: Evidence of the specificity of the
colloidal iron tracer technique and
demonstration of partial injury of
the aortic wall by twin tracer tech-
nique.
Folia Angiologica 25, 261-267 (1977).
- Jellinek, H. and
M. Bihari-Varga: Further investigations on the use
of a twin tracer technique for the
study of the movement of exogenous
particles.
Folia Angiologica 36, 150-152
(1978).

- Jellinek, H.,
J. Harsing,
S. Füzesi, and
M. Bihari-Varga:
Lipofundin administration and
vessel damages.
In: G. Nosedá, B. Lewis and
Paoletti (Eds.), Diet and Drugs
in Atherosclerosis, Raven Press,
New York 1980.
- Jellinek, H.,
J. Harsing and
Sz. Füzesi:
A new model for arteriosclerosis.
An electronmicroscopic study of the
lesions induced by i. v. adminis-
tered fat.
Atherosclerosis 43, 718 (1982).
- Karnovsky, M. J.:
Endothelial-vascular smooth muscle
cell interactions.
Amer. J. Pathol. 105, 200-206 (1981).
- Knieriem, H. J.:
Electron microscopic study of bovine
arteriosclerotic lesions.
Am. J. Path. 50, 1035 (1967).
- Knieriem, H. J.,
V. C. Y. Kao and
R. W. Wissler:
Demonstration of smooth muscle cells
in bovine arteriosclerosis.
J. Atheroscl. Res. 8, 125-136
(1968).
- Knieriem, H. J.:
Immunohistochemische Untersuchungen zur
Bedeutung der glatten Muskelzellen für
die Pathogenese der Arteriosklerose
des Menschen.
Beitr. path. Anat. 141, 4-18 (1970).
- Krompecher, J.:
Die Entwicklung der elastischen
Elemente der Arterienwand.
Z. Anat. Entwickl.-Gesch. 85, 704-723
(1928).

- Krompecher, J.: Form und Funktion in der Biologie.
Akademische Verlagsgesellschaft,
Leipzig, 1966.
- Laitinen, E.: Changes in the elemental structure
of the aorta in human and experi-
mental atherosclerosis.
Acta path. microbiol. scand. Suppl.
167, 1-92 (1963).
- Langhans, Th.: Beiträge zur normalen und patholo-
gischen Anatomie der Arterien.
Virchows Arch. Path. Anat. 36,
187-199 (1866).
- Lasser, N. L., Serum lipoproteins of normal and
P. S. Roheim, cholesterol-fed rats.
D. Edelstein and J. Lipid Res. 14, 1-8 (1973).
H. A. Eder:
- Leary, T.: The genesis of atherosclerosis.
Arch. Path. 32, 507-585 (1941).
- Lowry, O. H., Protein measurement with the folin
N. J. Rosebrough, phenol reagent.
A. C. Farr and J. Biol. Chem. 193, 265-275
R. J. Randall: (1951).
- Mahley, R. W. and Alterations of the plasma lipo-
K. S. Holcombe: proteins and apoproteins following
cholesterol feeding in the rat.
J. Lipid Res. 18, 314-324 (1977).

- Malinow, M. R.,
D. Hojman and
A. Pellegrino:
Different methods for the experimental production of generalized atherosclerosis in the rat.
Acta Cardiol. 9, 480-499 (1954).
- Marshall, J. R.
and M. O'Neal:
The lipophage in hyperlipemic rats. An electron microscopical study.
Exp. molec. Path. 5, 1-11 (1966 a).
- Marshall, J. R.,
M. O'Neal and
M. E. DeBakey:
The ultrastructure of uncomplicated human atheroma in surgically resected aortas.
J. Atheroscler. Res. 6, 120-131 (1966 b).
- Meyer, W. W.:
Die Arteriosklerose im Tierexperiment. In: Kaufmann, E., Lehrbuch der spez. Path. Bd. 1, 591-652.
W. de Gruyter Berlin 1969.
- Meyer, W. W.:
Pädiatrische Aspekte der Atherosklerose.
In: Sandorama 3, 25-30 (1981).
- Narayan, K. A.:
Lowered serum concentration of high density lipoproteins in cholesterol-fed rats.
Atherosclerosis 13, 205-215 (1971).
- Nemetschek-Gansler, H.,
H. Weiss,
H. C. J. Wenisch,
B. Noetzel and U.
Pretsch:
Intimal thickening of human femoral arteries with special regard to elastin.
Atherosclerosis 34, 167-191 (1979).

- Nikolov, S.,
V. Vankov and
G. Chaldakov: Über die feineren Beziehungen der Zell- und Faserelemente in der Aorta- und Pulmonalisedia beim Kaninchen.
Verh. Anat. Ges. 71, 681-687 (1977).
- Oakes, B. W.,
C. J. Handley,
L. B. Sandberg: The synthesis of elastin, collagen and glycosaminoglycans by high density primary cultures of neonatal rat aortic smooth muscle.
An ultrastructural and biochemical study.
European Journal of Cell Biology 27, 34-46 (1982).
- Parker, F.: An electron microscopic study of experimental atherosclerosis.
Am. J. Path. 36, 19-53 (1960).
- Parker, F. and
G. F. Odland: A correlative histochemical, biochemical, and electron microscopic study of experimental atherosclerosis in the rabbit aorta with special reference to the myo-intimal cell.
Amer. J. Path. 48, 197-239 (1966 a).
- Poole, C. J. F.,
A. G. Sanders and
H. W. Florey: The regeneration of aortic endothelium.
J. Path. Bact. 75, 133-143 (1958 a).
- Poole, J. C. and
H. W. Florey: Changes in the endothelium of the aorta and the behaviour of macrophages in experimental atheroma of rabbits.
J. Path. Bact. 77, 245-251 (1958 b).

- Reinhard, H.: Morphometrische Untersuchungen am Rattenherzmuskel nach Gabe von Cortisol.
Med. Diss. Heidelberg 1979.
- Rettig, H. C.: Form und Funktion der glatten Muskelzellen in der Pathogenese der Arteriosklerose.
Inaug. Diss. München 1979.
- Ross, R.: The smooth muscle cell.
J. Cell. Biol. 50, 172-186 (1971).
- Ross, R. and J. A. Glomset: Atherosclerosis and the smooth muscle cell.
Proliferation of the smooth muscle is a key event in the genesis of the lesion of atherosclerosis.
Sci. 180, 1332-1339 (1973).
- Ross, R., J. A. Glomset, B. Kariya and L. Harker: A platelet-derived serum factor that stimulates the proliferation of smooth muscle cells in vitro.
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 71, 1207-1210 (1974).
- Ross, R. and J. A. Glomset: The pathogenesis of atherosclerosis.
New Engl. J. Med. 295, 369-377 (1976).
- Ross, R., J. A. Glomset and L. Harker: Response to injury and atherosclerosis.
Am. J. Path. 86, 675-684 (1977).
- Ross, R.: The pathogenesis of atherosclerosis.
Atherogenese 3, 59-66 (1978).

- Ross, R.: Platelets: Cell proliferation and atherosclerosis. Metabolism 28, 410-414 (1979).
- Schettler, G. und H. Mörl: Ätiologie und Pathogenese der Arteriosklerose. Naturwissenschaften 65, 130-136 (1978).
- Schneeberger, E. E. and B. A. Neary: The bloodless rat: a new model for macromolecular transport studies across lung endothelium. Am. J. Physiol. 242, H890-H899 (1982).
- Schwartz, C. G., R. G. Gerrity and L. J. Lewis: Arterial endothelial structure and function with particular reference to permeability. In: Atherosclerosis reviews 3, 109-124 (1978).
- Simionescu, M., N. Simionescu and G. E. Palade: Permeability of muscle capillaries to small hemi-peptides; evidence for the existence of patent trans-endothelial channels. J. Cell. Biol. 64, 586-607 (1975 a).
- Simionescu, M., N. Simionescu and G. E. Palade: Segmental differentiations of inter-cellular junctions in the vascular endothelium: Arteries and veins. J. Cell. Biol. Suppl. 67, 401 a (1975 b).
- Staubesand, J.: Intracellular collagen in smooth muscle: The fine structure of the artificially occluded rat artery and ureter, and of human varicose and arteriosclerotic vessels. Beitr. Path. 161, 187-193 (1977).

- Staubesand, J.: Die Umwandlung vom K- zum M-Myocyten.
Vortrag gehalten am 29.6.1978 in Heidelberg.
- Stein, Y. and O. Stein: Lipid synthesis and degradation and lipoprotein transport in mammalian aorta.
Ciba Found. Symp. 12, 165 (1973).
- Stein, O., Y. Stein and S. Eisenberg: A radioautographic study of the transport of ^{125}J -labelled serum lipoproteins in rat aorta.
Z. Zellforschung 138, 223-237 (1973).
- Still, W. J. S. and R. M. O'Neal: Electron microscopic study of experimental atherosclerosis in the rat.
Am. J. Path. 40, 21-35 (1962).
- Still, W. J. S.: An electron microscopic study of cholesterol atherosclerosis in the rabbit.
Exp. molec. Path. 2, 491-502 (1963).
- Still, W. J. S. and P. R. Mariott: Comparative morphology of the early atherosclerotic lesion in non-cholesterol atherosclerosis in the rabbit. An electron microscopic study.
J. Atheroscl. Res. 4, 373-386 (1964).
- Still, W. J. S. and S. M. Dennison: Reaction of the arterial intima of the rabbit to trauma and hyperlipemia.
Exp. molec. Path. 6, 245-253 (1967).

- Thomas, W. A.,
R. Jones,
R. F. Scott,
E. Morrison and
H. Imai:
Production of early atherosclerotic lesions in rats characterized by proliferation of modified smooth muscle cells.
Exp. molec. Path. Suppl. 1, 40-61 (1963).
- Thomas, W. A.,
R. A. Florentin,
S. Ch. Nam,
D. M. Kim,
R. M. Jones and
K. T. Lee:
Preproliferative phase of atherosclerosis in swine fed cholesterol.
Arch. Path. 86, 621-643 (1968).
- Thompson, G. and
G. Sigurdson:
Effects of intravenous phospholipid on plasma apo-LDL turnover.
Suppl. III to Circ. Vols. 49+50, 272 (1974).
- Wakely, P. E. and
G. Hug:
Intralipid vasculopathy.
The Lancet 26 1416 (1981).
- Weber, E.:
Grundriß der biologischen Statistik.
Gustav Fischer, Stuttgart 1972.
- Weibel, E. R. and
G. E. Palade:
New cytoplasmic components in arterial endothelia.
J. Cell Biol. 23, 101-112 (1964).
- Wieland, H. und
D. Seidel:
Fortschritte in der Analytik des Lipoproteinmusters.
Innere Medizin 5, 290-300 (1978).

Wissler, R. W.,
M. L. Eilert and
M. A. Schroeder:

Production of lipomatous and
atheromatous arterial lesions in
the albino rat.

A. M. A. Arch. Pathol. 57,
333-351 (1954).

Wissler, R. W. and
V. Kao:

Immunohistochemical studies of the
human aorta.

Fed. Proc. 21, 95 (1962).

Wissler, R. W.:

The arterial medial cell, smooth
muscle or multifunctional mesenchyma.
Circ. 36, 1-4 (1967).

Wissler, R. W.:

The arterial medial cell, smooth
muscle or multifunctional mesenchyma.
J. Atheroscler. Res. 8, 201-213
(1968).

LEBENS LAUF

Am 27. Juli 1949 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Werner SEIFERT und seiner Ehefrau Annerose, geb. HÖSEL, in Jössnitz/Vogtland geboren.

Nach 8-jährigem Besuch der Grundschule wurde ich im September 1964 in die Erweiterte Oberschule in Plauen/Vogtland aufgenommen, die ich bis Mai 1968 besuchte.

Am 30. Mai 1968 flüchtete ich aus der DDR in die Bundesrepublik Deutschland.

Ab Oktober 1968 besuchte ich die Ricarda-Huch-Schule in Gießen, wo ich im Oktober 1969 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1969/70 immatrikulierte ich mich an der Juristischen Fakultät der Justus-Liebig-Universität Gießen. Danach wechselte ich im Wintersemester 1970/71 an die Veterinärmedizinische Fakultät der Justus-Liebig-Universität Gießen und approbierte hier im September 1976.

Anschließend war ich bemüht, durch Hospitieren in verschiedenen Tierkliniken und Praxen praktische Erfahrung in meinem Beruf als Tierarzt zu sammeln.

Seit dem 1. April 1979 bin ich angestellter Tierarzt in einer Gemischtpraxis in Beerfelden/Odenwald.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. W. HOFMANN und Herrn Prof. H. JELLINEK, Gastprofessor an der Universität Heidelberg, für die Überlassung des interessanten Themas und ihre jederzeit vorbildliche wissenschaftliche Unterstützung herzlich zu danken.

Herrn Prof. Dr. Dres. h. c. W. DOERR, em. Direktor des Pathologischen Institutes der Universität Heidelberg, danke ich für die freundliche und großzügige Bereitstellung eines Arbeitsplatzes.

Darüber hinaus gilt mein Dank Herrn Ing. grad. H. DERKS und Herrn RIEGER für wertvolle Hilfe bei der Ausführung des elektronenmikroskopischen Teiles dieser Arbeit.

